

Aus der  
Abteilung für Angeborene Herzfehler  
am Deutschen Herzzentrum Berlin

DISSERTATION

**Hämodynamische und funktionelle  
Charakterisierung eines Modells zur  
isolierten Nierenperfusion anhand von  
Noradrenalin und Nitroprussid-Natrium**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von  
Henning Aurich  
aus Haltern / Westfalen

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. P.E. Lange  
2. Univ.-Prof. Dr. L.B. Zimmerhackl  
3. Prof. Dr. R. Schindler

Datum der Promotion: 23.Juli 2004

<b><u>1</u></b>	<b><u>EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG</u></b>	<b>6</b>
1.1	<u>PERFUSIONSMODELL</u>	6
1.2	<u>PHARMAKOLOGISCHE EXPERIMENTE</u>	9
1.3	<u>FRAGESTELLUNG</u>	12
<b><u>2</u></b>	<b><u>METHODEN</u></b>	<b>13</b>
2.1	<u>ORGAN- UND PERFUSATGEWINNUNG</u>	13
2.2	<u>VERSUCHSABLAUF</u>	15
2.3	<u>MESSUNGEN</u>	18
2.4	<u>STATISTIK</u>	19
2.5	<u>LABORMETHODEN</u>	19
2.6	<u>HISTOLOGIE</u>	20
<b><u>3</u></b>	<b><u>ERGEBNISSE</u></b>	<b>23</b>
3.1	<u>ALLGEMEINES</u>	23
3.2	<u>FUNKTIONSPARAMETER</u>	24
3.3	<u>GEFÄSSCOMPLIANCE</u>	33
3.4	<u>GELELEKTROPHORESE</u>	33
3.5	<u>HISTOLOGIE</u>	37
<b><u>4</u></b>	<b><u>DISKUSSION</u></b>	<b>41</b>
4.1	<u>PERFUSIONSMODELL</u>	41
4.2	<u>WEITERE FUNKTIONSPARAMETER IN DER KONTROLLPHASE</u>	47
4.3	<u>INTERVENTIONSPHASE</u>	49
4.3.1	<u>NORADRENALIN</u>	50
4.3.2	<u>NITROPRUSSID-NATRIUM</u>	51
4.4	<u>SHUNTS</u>	53
4.5	<u>SCHLUSSFOLGERUNG</u>	54
	<b><u>LITERATURVERZEICHNIS</u></b>	<b>55</b>
	<b><u>DANKSAGUNG</u></b>	<b>64</b>
	<b><u>ERKLÄRUNG AN EIDES STATT</u></b>	<b>65</b>

## Zusammenfassung

### Einleitung

Die ethische Rechtfertigung von Tierversuchen ist in unserer Gesellschaft höchst umstritten. Es ist in zunehmendem Maße Gegenstand von wissenschaftlichen Bemühungen, Alternativmethoden zu Tierversuchen zu etablieren. In dieser Arbeitsgruppe wurde ein Modell zur isolierten Vollblutperfusion kältekonserverter Schlachthoforgane entwickelt. Es wurde anhand von Experimenten mit vasoaktiven Pharmaka der hämodynamische Funktionszustand der isoliert reperfundierten Schweineniere evaluiert.

### Methoden

21 Nieren wurden nach einer warmen Ischämiephase von  $16,5 \text{ min} \pm 4,3 \text{ min}$  und einer Kältekonserverung von  $6,6 \text{ h} \pm 1,9 \text{ h}$  für insgesamt 150 Minuten normotherm reperfundiert, wovon eine Zeitspanne von 45 Minuten nach einer einstündigen Äquilibrationsphase bei allen Nieren als interne Kontrolle diente. Daraufhin wurde ohne Pharmakongabe bei 6 Nieren (Gruppe 1, Kontrolle), unter Dauerinfusion von Nitroprussid-Natrium (NN) bei 8 Nieren (Gruppe 2) und von Noradrenalin (NA) bei 7 Nieren (Gruppe 3) für weitere 45 Minuten mit der Perfusion fortgefahren. In 15-minütigen Abständen wurden Blut- und Urinproben entnommen, und so wurden die renalen Funktionsparameter bestimmt sowie der Urin per Gelelektrophorese qualitativ auf Proteinurie untersucht. Anschließend an die Perfusion wurden die Nieren einer pathologisch-histologischen Begutachtung unterzogen, die mittels eines selbstentwickelten Scores quantifiziert wurde.

### Ergebnisse

Die beiden vasoaktiven Pharmaka entfalteten in der Interventionsphase die ihnen normalerweise zugeschriebenen Primärwirkungen: NA konstringierte die Hauptwiderstandsgefäße der Niere. Der renale Widerstand stieg von 0,61 auf 0,80 mmHg\*min/(ml\*100gNG). NN dilatierte die Hauptwiderstandsgefäße. Der Perfusionswiderstand sank von 0,74 auf 0,65 mmHg\*min/(ml\*100gNG). Umgekehrt verhielt sich der Perfusionsplasmafluß. Er sank unter NA von 104,74 auf 87,45 ml/(min\*100gNG), während er unter NN von 107,20 auf 121,98 ml/(min\*100gNG) stieg. Das Harnzeitvolumen stieg unter NA von 3,01 auf 3,33 ml/(min\*100gNG) und sank unter NN von 1,62 auf 1,10 ml/(min\*100gNG). Die Kreatininclearance sank sowohl unter NA (von 11,02 auf 9,48 ml/(min\*100gNG)), als auch unter NN (von 10,89 auf 6,31 ml/(min\*100gNG)). Während die Filtrationsfraktion unter NA konstant blieb, sank sie unter NN von 11,66 auf 6,30 %. Der Natriumtransport sank unter beiden Pharmaka, und zwar unter NA von 1,34 auf 1,14 mmol/(min\*100gNG) und unter NN von 1,43 auf 0,84 mmol/(min\*100gNG). Die Elektrophorese zeigte qualitativ eine selektive, im späteren Perfusionsverlauf unselektiver werdende Proteinurie bei allen untersuchten Nieren. In der Histologie zeigte sich in der Referenzgruppe tendentiell ein geringer ausgeprägter Ischämie-Reperfusionsschaden als nach Perfusion mit den verwendeten Pharmaka. Unter NN ließ sich hauptsächlich eine vermehrte Vakuolenbildung ausmachen, unter NA eine Dilatation der proximalen Tubuli.

### Diskussion

An den gemessenen Funktionsparametern konnte eine bevorzugte Wirkung beider Substanzen an den postglomerulären Arteriolen abgelesen werden, wie dies auch von der Literatur fast einhellig bestätigt wird. Die Ergebnisse der Elektrophorese lassen auf einen glomerulären Ischämieschaden schließen. Auch durch die histologische Begutachtung konnte diese Aussage des Ischämie-Reperfusionsschadens mit Ausdehnung auf eine tubuläre Komponente des Schadens bekräftigt werden. Sie steht in direktem Zusammenhang mit den Ergebnissen der Evaluation der Funktionsparameter. Die Ischämie bewirkte in erster Linie eine Erhöhung des renalen Gefäßwiderstandes. Die Verwendung des Kalziumantagonisten Verapamil sollte diesen Effekt einschränken und führte zu einer aufgehobenen Autoregulation. Die Experimente liefern als ein Modell des ischämisch induzierten Nierenversagens reproduzierbare und signifikante Ergebnisse.

Ischämie, Reperfusionsschaden, isolierte Organperfusion, Schweineniere

## Abstract

### Introduction

Ethical justification of vivisection is an issue of controverse discussion. It is an issue of scientific effort to produce alternative methods. In this study a model of normothermic reperfusion was established including organs from slaughterhouse animals undergoing cold ischemia before reperfusion. Vasoactive agents were used to determine the state of function of the isolated perfused pig kidney.

### Methods

21 kidneys were reperfused for 150 minutes after a cold ischemia of  $6.6 \text{ h} \pm 1.9 \text{ h}$  and a warm ischemia of  $16.5 \text{ min} \pm 4.3 \text{ min}$ . Normothermic conditions were established. After a time span of an hour that served as an equilibration time, 45 minutes of untreated perfusion followed (internal control). After that, 6 kidneys remained untreated for another 45 minutes (group 1), 8 kidneys were continuously treated with sodium nitroprusside (SN) and 7 kidneys with norepinephrine (NE). In intervals of 15 minutes, blood and urine samples were taken. Thus parameters of renal function were determined and the urine was examined with gel electrophoresis. After perfusion, all kidneys underwent a histopathological examination which was quantified using a self-established score.

### Results

Both pharmacological substances revealed their primary effects on renal vasculature. NE constricted the main renal resistance vessels. Renal resistance raised from 0.61 to 0.80 mmHg\*min/(ml\*100g renal weight). SN dilated the main resistance vessels. Perfusion resistance was reduced from 0.74 to 0.65 mmHg\*min/(ml\*100g renal weight). Perfusion plasma flow was reduced from 104.74 to 87.45 ml/(min\*100g renal weight) under NE. It was raised from 107.20 to 121.98 ml/(min\*100g renal weight) under SN. Under NE, urine time volume was raised from 3.01 to 3.33 ml/(min\*100g renal weight) and it was reduced from 1.62 to 1.10 ml/(min\*100g renal weight) under SN. Creatinine clearance was reduced from 11.02 to 9.48 ml/(min\*100g renal weight) under NE as well as under SN (from 10.89 to 6.31 ml/(min\*100g renal weight)). Filtration fraction remained constant during infusion of NE, but it was reduced from 11.66 to 6.30 % under SN. Sodium transport was reduced under both substances. NE reduced it from 1.34 to 1.14 mmol/(min\*100g renal weight) and from 1.43 to 0.84 mmol/(min\*100g renal weight) under SN. Electrophoresis revealed qualitatively selective proteinuria in all examined kidneys, becoming more unselective in the course of the experiment. Histopathological findings revealed a smaller reperfusion injury in the control group than in both other groups ( $P > 0.05$ ). SN led to a vacuolisation in proximal tubular epithelium, NE was mainly responsible for a dilation of the proximal tubuli.

### Discussion

All measured function parameters revealed that the main effect of both substances was located in the postglomerular sphincter, which is also postulated by most of the literature. The results of urine electrophoresis lead to the assumption that there is a glomerular ischemic injury. Histological findings show also a tubular aspect of the reperfusion injury. It can be seen in direct context with the parameters of renal function. Ischemia was mainly responsible for a raise in renal vascular resistance. The calcium antagonist verapamil hydrochloride was used to diminish this effect and prevented autoregulation. Being defined as a model of ischemically induced renal failure, the experiments reveal reproducible and significant results

ischemia, reperfusion injury, isolated organ perfusion, pig kidney

# 1 Einleitung und Fragestellung

## 1.1 Perfusionsmodell

1997 wurden in Deutschland 10.704 Schweine im Rahmen von Tierversuchen getötet. Insgesamt wurden in diesem Jahr in Deutschland 1.495.741 Tiere zu Versuchszwecken verwendet [1]. Die ethische Rechtfertigung von physiologischen Experimenten an Tieren (Vivisektion) ist in unserer Gesellschaft höchst umstritten. In den Medien finden immer wieder heftige Diskussionen über ihren Nutzen statt [2]. Unumstrittenermaßen ist eine zahlenmäßige Einschränkung von Vivisektionen, ohne gleichzeitig auch Einschränkungen bei den Forschungsergebnissen in Kauf nehmen zu müssen, ein erstrebenswertes Ziel, wie es bereits im Jahre 1959 Russel und Burch in ihrem Prinzip der „drei r“ postulierten. Hiermit gemeint sind die drei Wörter „replace“, „reduce“ und „refine“ [3].

Tierversuche durch Alternativmethoden zu ersetzen und die Zahl der Tiere und der Versuche zu reduzieren sind aus diesem Grund Ziele der Forschungsförderung. Die Entwicklung solcher Ersatz- und Ergänzungsmethoden ist in Europa sogar per Richtlinie vorgeschrieben [4]. Der Tierschutz wurde am 17. Mai 2002 im Deutschen Bundestag mehrheitlich durch die Ergänzung des Artikels 20a des Grundgesetzes (Schutz der natürlichen Lebensgrundlagen) um den Ausdruck „und die Tiere“ in die Verfassung aufgenommen.

Der Haushalt des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) war im Jahr 1999 um rund 904 Mio. Mark von 14,097 Mrd. Mark auf 15,001 Mrd. Mark gestiegen, was die zunehmende Bedeutung dieses Ressorts unterstreicht und die ethische Rechtfertigung bestimmter Forschungsmethoden weiter in den Vordergrund treten lässt [1].

Im Rahmen eines vom BMBF geförderten Projektes der Humboldt-Universität Berlin wurde in unserer Forschungsgruppe eine Methode zur normothermen ex-vivo Vollblutperfusion der Niere als Organ von Schlachthoftieren etabliert. Die Frage war, ob die Methode ein valides Tierversuchersatz- oder -ergänzungsmodell darstellt und Tierversuche einzusparen hilft.

In dieser Arbeit wird zur Modellvalidierung anhand der konservierten und anschließend isoliert reperfundierten Schweineniere der hämodynamische Funktionszustand während der frühen Phase der Reperfusion charakterisiert.

Es wurden zu diesem Zweck mit interner und externer Kontrolle Perfusionsexperimente mit den vasoaktiven Substanzen Noradrenalin (NA) und Nitroprussid-Natrium (NN) durchgeführt. Dazu diente ein Versuchsaufbau zur normothermen Hämoperfusion mit autologem Blut.

Es existieren bereits verschiedene Ansätze solcher Perfusionsmodelle. Grundsätzliche Unterschiede in den verschiedenen Arbeitsgruppen bestehen zum ersten in der Art des Tiermodells.

Ratten und Mäuse zum Beispiel sind als Versuchstiere in der heutigen medizinischen Forschung häufig. Bei einer isolierten Organperfusion mit Vollblut als Perfusionsmedium jedoch besteht bei Organen von kleinen Nagetieren ein Problem darin, das Perfusionssystem mit Blut zu füllen, da z.B. die Ratte aufgrund ihrer Größe nur über ein begrenztes Blutvolumen verfügt. Zudem ist jede Art von Manipulation am Organ wie zum Beispiel die Kanülierung durch die geringe Größe der Gefäße erschwert. Das Schwein bietet sich als Organlieferant wegen seiner Eigenschaften bezüglich Anatomie und Genetik an, die den menschlichen in bestimmten Bereichen zudem recht nahe kommen.

Zum zweiten steht die Wahl des Perfusionsmodells zur Diskussion. In einer Übersichtsarbeit von Schurek [5] mit dem Thema Perfusion der Rattenniere werden 3 Perfusionsarten beschrieben:

Die single-pass Perfusion hat die charakteristische Eigenschaft, den Katabolismus als mögliche Fehlerquelle bei Fragestellungen, die sich mit Metabolismus beschäftigen, auszuschließen. Die Rezirkulationsmethode kann bei biochemischen Fragestellungen angewandt werden, sofern die Akkumulation von bestimmten Metaboliten im Verlauf der Perfusion erwünscht ist. In der Rezirkulationsmethode mit Dialyse, die auch hier angewandt wird, werden die Vorteile beider Perfusionstechniken miteinander verbunden. Außerdem kann hier die Homöostase in bezug auf z.B. Temperatur und Solute, falls gewünscht, auch über einen längeren Zeitraum, leicht gewährleistet werden.

Eine direkte Begasung des Perfusionsmediums stellt den Experimentierenden vor die Schwierigkeit der genauen Titrierung der Perfusionsparameter. In der Rezirkulation mit Dialyse jedoch sind kurzfristige Schwankungen relativ unwahrscheinlich, da gegebenenfalls Änderungen bereits mit Hilfe der „Relaisstation“ Dialysat vorbeugend gepuffert werden. Es besteht aber auch noch die Möglichkeit, direkt die Zusammensetzung und Eigenschaften des Perfusionsmediums zu ändern.

Im vorliegenden Modell ist außerdem durch eine manuell und getrennt regelbare Pumpenleistung das an eine langsame Widerstandssenkung angepaßte druckkontrollierte Anfahren der Perfusion möglich, was gerade in ihrer ersten Phase protektiv auf alle beteiligten Nierenanteile wirkt [6]. Ein zu hoher Druck würde das Endothel schädigen [7]. Ein zu niedriger Druck hätte eine Hypoxie zur Folge.

Ein weiterer zu erörternder Punkt ist die Wahl des geeigneten Perfusionsmediums, hier reicht das Spektrum von gekühlter isotonischer Kochsalzlösung über Ringerlösung [8, 9] bis zum normothermen Vollblut [10, 11, 12, 13].

Insgesamt bieten Modelle mit Blut den Vorteil der relativen Nähe zu normalen im Körper ablaufenden Vorgängen, ein Nachteil ist die auch in Verbindung mit extrakorporalen Schlauchsystemen wie z.B. im Rahmen von Operationen mit der Herzlungenmaschine auftretende Komplementaktivierung durch die fremden Oberflächen, die letztendlich zu endothelialen Läsionen führt [14].

Versuchsanordnungen mit zellfreien Lösungen haben den Vorteil, daß unbegrenzt Perfusionsmedium zur Verfügung steht. Nachteile sind allerdings, daß sich das jeweilige Modell weiter von in-vivo-Bedingungen entfernt und daß aufgrund des Fehlens korpuskulärer Sauerstoffträger die Sauerstoffkapazität des Mediums schneller erschöpft ist [15]. Blutverdünnung [16, 17] oder verschiedene medikamentöse Zusätze zum Perfusionsmedium, wie zum Beispiel Verapamil, werden in der Praxis als Modifikationen angewandt. Verapamil kommt auch in unserem Modell zum Einsatz [10].

Im Normalfall folgt auf den Kalziumeinstrom in glatte Muskelzellen eine Bindung von Kalmodulin an Kalzium, woraufhin die Myosin-Leichte-Ketten-Kinase (MLCK) aktiviert werden kann, die wiederum durch Phosphorylierung der leichten Ketten die Myosin-ATPase aktiviert. Myosinphosphatase (MLCP) dephosphoryliert die leichten Ketten wieder [18]. Verapamil blockiert die spannungsabhängigen Kalziumkanäle der glatten Gefäßmuskulatur und somit den zur Konstriktion der Widerstandsgefäße notwendigen Kalziumeinstrom in die Zellen. Die vorteilhafte Wirkung von Verapamil unter Ischämie ist bei Shapiro und Malis [19, 20] beschrieben. Ihr liegt eine Verminderung des tubulären Sauerstoffverbrauchs durch eingeschränkte Natriumresorptionsaktivität zugrunde, außerdem die vasodilatative Eigenschaft des Verapamil und drittens ein direkter Effekt auf Nierenzellen, der nicht durch Vasodilatation vermittelt wird.



So wurde bei Brezis [8] Verapamil mit Erfolg dazu verwendet, den kalziumabhängigen Reperfusionsschaden vor allem an den medullären dicken aufsteigenden Schenkeln der Henle-Schleife zu vermindern.

In der Literatur finden sich auch noch weitere Perfusionsmodelle [21, 22], in denen die konzentrationsabhängige widerstandssenkende Eigenschaft des Verapamil beschrieben wird und eine die Apoptosemechanismen einschränkende Wirkung von Kalziumkanalblockern postuliert wird [23, 24]. Standardmaßnahme ist eine Antikoagulation mit Heparin, sowohl in der Konservierung [25] als auch in der eigentlichen Perfusion [10, 11, 26, 27].

## 1.2 Pharmakologische Experimente

Die Wahl der Substanzen zur Modellvalidierung fiel aufgrund der folgenden Überlegungen auf Noradrenalin (NA) und Nitroprussid-Natrium (NN):

Vor dem Hintergrund der hämodynamischen Charakterisierung unseres Modelles erschien es besonders interessant, gerade hämodynamisch wirksame Pharmaka zu untersuchen. Dazu ist auch die isolierte Betrachtung des Organs durch die isolierte Perfusion wichtig. Dabei sind alle Nebeneffekte des Restorganismus systematisch ausgeschaltet.

Die beiden verwendeten Pharmaka gehören zu einer Gruppe von Medikamenten, die häufig in der Intensivmedizin Anwendung finden. Sie sind als Substanzen mit unter Umständen positivem Einfluß auf die Gesamtkreislaufsituation allgemein anerkannt. Dieser Sachverhalt ist auch in umfassendem Maße erforscht.

NN (Struktur siehe Abb. 1) ist ein potenter Vasodilatator, mit Indikationen bei Bluthochdruckkrisen, maligner und therapieresistenter Hypertonie, hypertonen Formen des Myokardinfarktes und zur intraoperativ kontrolliert herbeigeführten Hypotension [28].

Die Wirkung des Stoffes basiert auf der Freisetzung von Stickstoffmonoxidmolekülen (NO), die als Transmittersubstanz auf glatte Muskulatur relaxierend und somit auf die Gefäße dilatierend wirken. Robinson stellt in einer Untersuchung an Unterarmgefäßen fest, daß die Wirkung von NN auf Venolen ca. 10-fach höher ist als jene auf Arteriolen [29].

Zudem wird von einem stimulierenden Effekt von NO auf die Natriumkanäle der kortikalen Sammelrohre ausgegangen, der wiederum Folge einer erhöhten Leitfähigkeit der basolateralen Membran für Kaliumionen ist. [30]

Die Versuche von Bastron [12] sind am ehesten mit unseren zu vergleichen. Der Hauptunterschied liegt aber darin, daß bei Bastron kein geschlossener Kreislauf vorliegt. In seiner Versuchsanordnung verbleibt die Niere im Hundesitus und das venöse Blut fließt in den Blutkreislauf eines zweiten Hundes zurück. Er vergleicht die Nierenfunktionsparameter der quasi isoliert und nicht isoliert perfundierten Niere miteinander. Er kommt zu dem Schluß, daß der selektive Effekt des NN auf die Niere im Vergleich zur systemischen Wirkung verschwindend gering ist.

Radermacher hat ebenfalls die Wirkung von NO beleuchtet, das aus NN freigesetzt wird und seine pharmakologische Wirkung ausmacht [22]. Bei Leighton wird der Effekt von NN auf die Niere bei systemischer Gabe beschrieben [31]. Hier wird durch seine Gabe eine systemische Hypotension erreicht. Der renale Blutfluß bleibt unterdessen konstant.

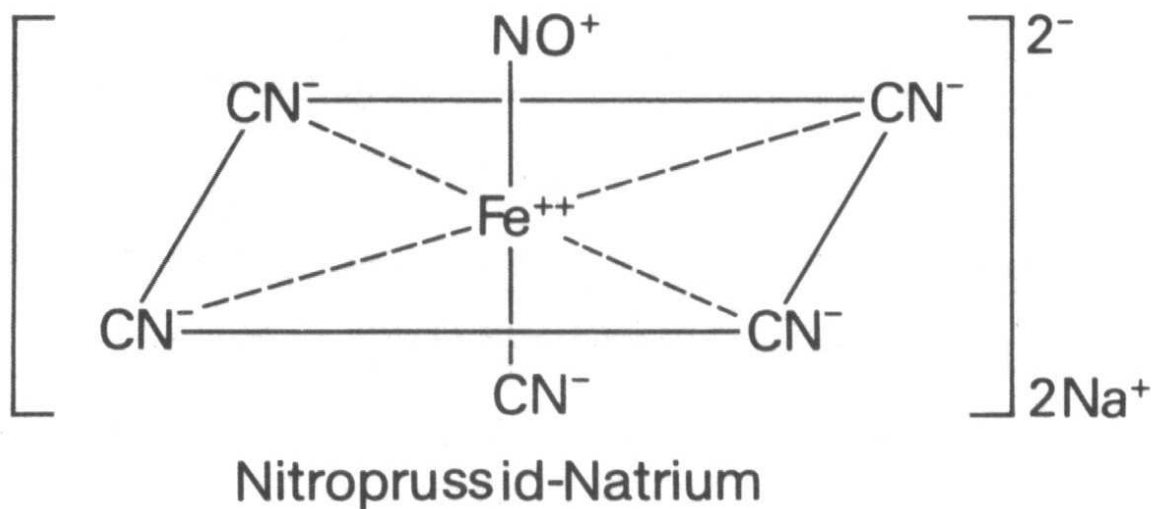


Abb. 1: Chemische Struktur von Nitroprussid-Natrium

NA (Struktur siehe Abb. 2) ist ein stark vasokonstriktorisch wirksamer Neurotransmitter der Synapsen des zweiten sympathischen Neurons. Es wird therapeutisch bei verschiedenen Schockformen, Vergiftungen und Infektionen zur Aufrechterhaltung der Durchblutung lebenswichtiger Organe, nicht zuletzt auch der Nieren, angewandt. Als Wirkmechanismus liegt die Konstriktion der peripheren Widerstandsgefäße des Körpers und somit die Bereitstellung einer vergrößerten Blutmenge in den lebenswichtigen Organen zugrunde.

Unter bestimmten Fragestellungen wird NA auch in der experimentellen Forschung verwendet, um durch Mangeldurchblutung das akute Nierenversagen zu induzieren [32, 33] bzw. den renalen Blutfluß zu reduzieren [34, 35, 36].

In seiner Wirkung hat NA eine im Vergleich zu Adrenalin 20 bis 50-fach höhere Affinität zu Adrenorezeptoren, hierbei steht die  $\alpha$ -, speziell die  $\alpha_1$ -mimetische Wirkung stark im Vordergrund. In vivo steigen nach NA-Gabe sowohl der systolische als auch der diastolische Blutdruck und der periphere Widerstand an [37, 38].

Von einigen Arbeitsgruppen sind bereits Versuche mit den beiden Substanzen an isolierten Nieren durchgeführt worden, so daß eine gewisse Vergleichbarkeit und die Möglichkeit einer Einordnung unserer Versuche besteht. Lieberthal zum Beispiel kommt zu dem Schluß, daß die durch Ischämie bedingte renale vaskuläre Widerstandserhöhung durch die postischämisch mangelnde Funktion von endothelium derived relaxing factor (EDRF) vermittelt wird. NN als endothelunabhängiger Vasodilatator kann aber dieser Widerstandserhöhung

entgegenwirken [39]. Den Aspekt, daß NN als NO-Donator einen dosisabhängigen senkenden Einfluß auf den Perfusionswiderstand hat, bringt Radermacher ins Spiel [22]. Linas geht davon aus, daß NN in der isolierten Nierenpräparation dem negativen Effekt von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten in der Pathogenese des Nierenversagens entgegenwirken kann [40].

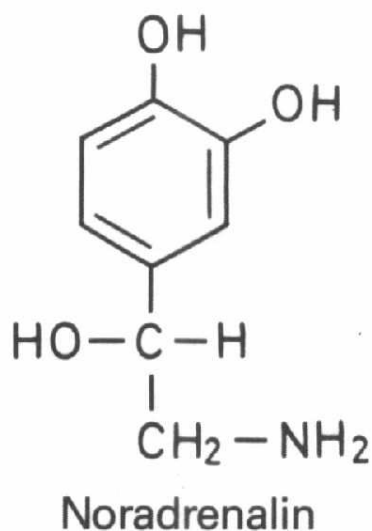


Abb. 2: Chemische Struktur von Noradrenalin

### 1.3 Fragestellung

Anhand der Charakterisierung der Hämodynamik und Funktion der im Schlachthof gewonnenen, kältekonserverten und normotherm vollblutreperfundierten Schweineniere sollte festgestellt werden, inwieweit ihr Konservierungs- und Funktionszustand von normalen Bedingungen abweichen. Außerdem sollte das Modell in den Kontext anderer Modelle, die zum Teil auch pathologische Funktionszustände der Niere beschreiben, eingeordnet werden.

Unter diesen Voraussetzungen sollte beleuchtet werden, inwieweit pharmakologische Forschung am Modell aussagekräftig ist.

## 2 Methoden

### 2.1 Organ- und Perfusatgewinnung

Zwischen 80 und 120 kg ( $101 \pm 16$  kg; MW  $\pm$  SD) schwere Schweine der Deutschen Landrasse (n=21) wurden entsprechend dem am Schlachthof der Eberswalder Fleischwaren in Britz (Brandenburg) üblichen Prozedere geschlachtet: Nach Elektroschockbetäubung wurden die Tiere an den Hinterläufen aufgehängt (geschäkelt) und per Gurgelschnitt entblutet.

Das Blut als Hauptbestandteil des späteren Perfusionsmediums wurde dabei in einer Metallschüssel aufgefangen, dann mit wäßriger Natriumcitratlösung (3,2 %, 15 ml/l Blut) und mit Heparin (10.000 IE/l Blut, Liquemin, Roche Pharma) versetzt und später atraumatisch in je einen Liter Blut fassende Transportgefäße umgefüllt. Später wurde es in klinikübliche Blutkonservenbeutel zu 500 ml umgefüllt.

Den Schweinen wurde im weiteren Verlauf der Schlachtung für eine Dauer von 1-2 Minuten in einer Brühvorrichtung aus schlachttechnischen Gründen oberflächlich heißes Wasser appliziert. Es erfolgte nun, den Schlachtkörper wiederum aufgeschäkelt, der Bauchschnitt, und die intraperitonealen Organe wurden entfernt, so daß das Peritoneum zur Nierenentnahme freilag. Nach dem Durchtrennen der beiden Ureteren mit einer Schere wurde das die Nieren bedeckende Peritoneum geschlitzt. Aorta abdominalis und Vena cava inferior wurden in Nierenhöhe jeweils kaudal des Abganges der Nierengefäße durchtrennt und komplett von den angrenzenden Strukturen bis über die Arteria und Vena renalis hinaus nach kranial abpräpariert. (Abb. 3)

Ein weiterer Schnitt durch Aorta und Vena cava erfolgte nunmehr kranial der Abgänge der Nierengefäße. Beide durch das kurze Aorten- und Hohlvenenstück noch miteinander verbundenen Nieren wurden entnommen, linke und rechte Niere am Aortenstück voneinander getrennt und einzeln gewogen (Nativgewicht).

Danach erfolgte die arterielle Kanülierung der Nieren: Eine flexible Kunststoffkanüle wurde mit OP-üblichem Seidenfaden in die Arteria renalis eingebunden, woraufhin 20 ml der gekühlten, mit Heparin versetzten Konservierungslösung zur Vorspülung manuell behutsam in die kanülierte Arteria renalis injiziert wurden. Dann wurden den beiden Nieren aus einer Höhe von 150 cm jeweils 500 ml der auf ca. +4° C gekühlten und mit 5 mg Verapamilhydrochlorid versetzten Konservierungslösung nach von Baeyer [16] (Tab. 4, Anhang) infundiert. Die Organe befanden sich während dieses

Vorganges in einem bei +4° C gelagerten Kunststoffbeutel, so daß sie anschließend im eigenen venösen Eluat schwammen. Die Vene wurde durch Einbinden mit einem großlumigen Trachealtubus kanüliert, der Ureter mit einer großlumigen Absaugkanüle (Abb. 4).

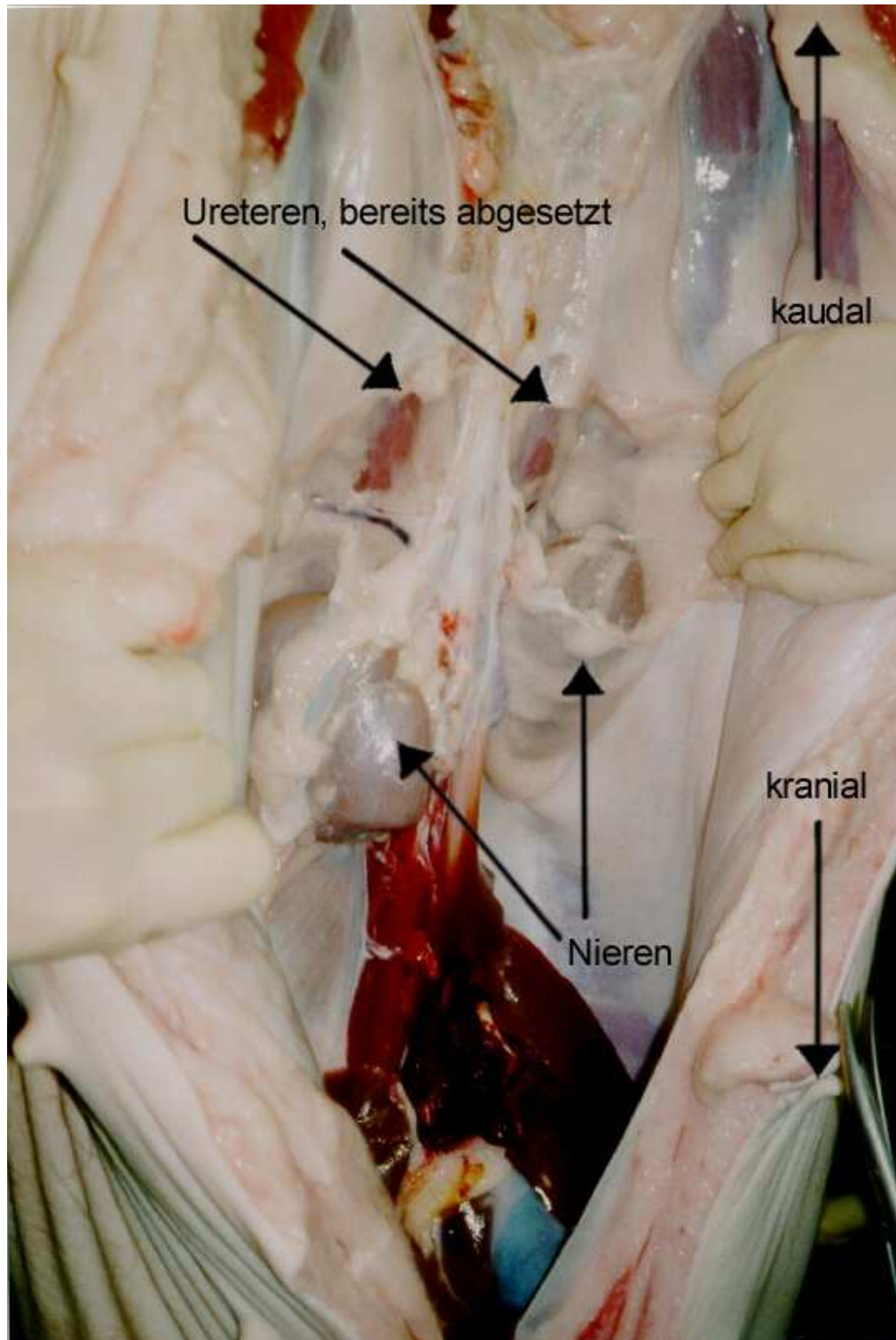


Abb. 3: Organgewinnung: Schonende Präparation des doppelten Nierenpaketes.

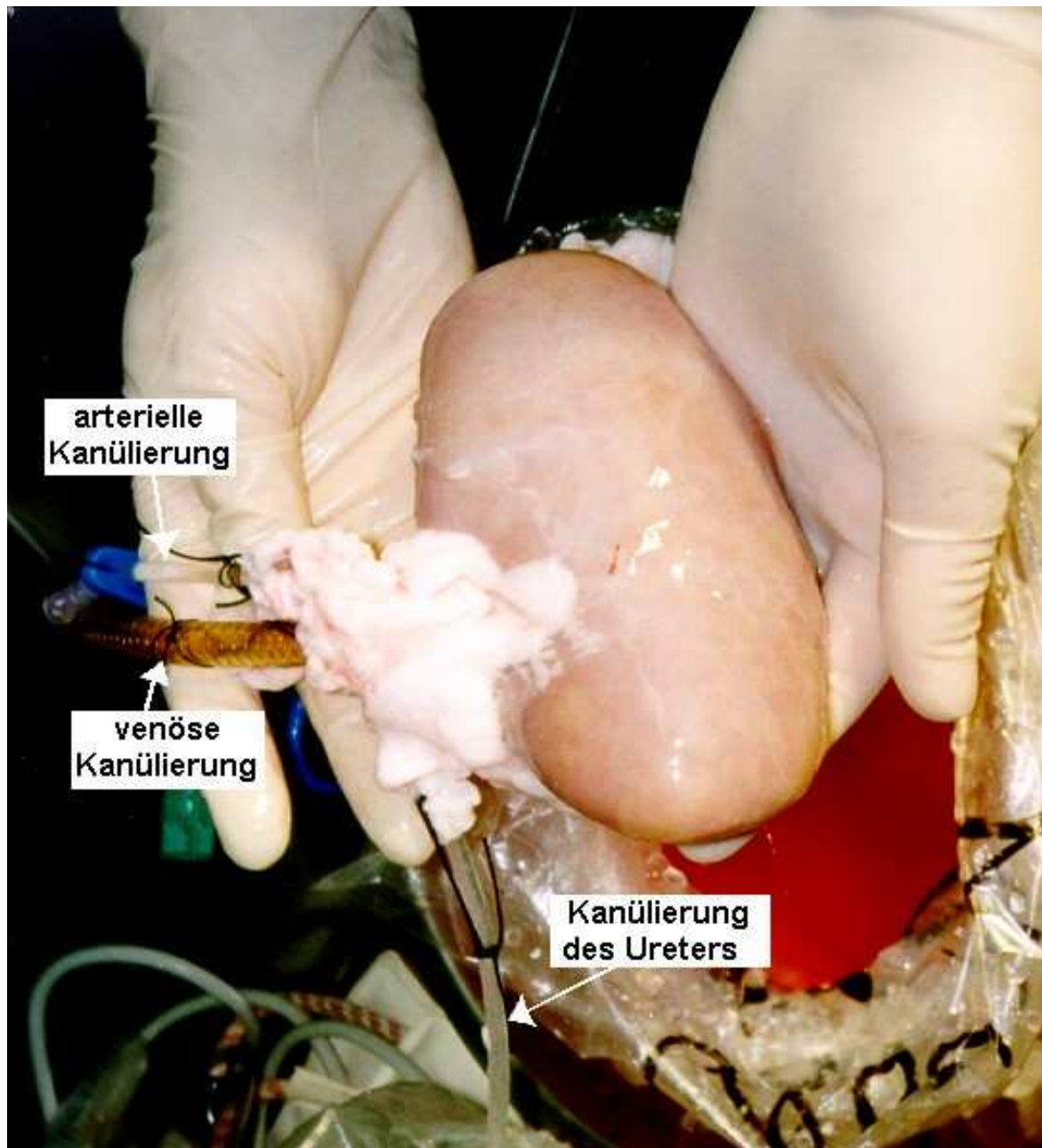


Abb. 4: Zur Perfusion komplett kanülierte Niere

## 2.2 Versuchsaufbau

3 Liter Dialysatflüssigkeit [16] (siehe Tab. 4, Anhang) wurden in den Dialysatbehälter gefüllt und mit Sauerstoff und Kohlendioxid begast.

Das Schlauchsystem wurde mit 500 ml heparinisierte isotonische Kochsalzlösung gefüllt. Das Dialysat konnte sich inzwischen bei jeweils aktivierter Pumpenmechanik und Wärmeverrichtung auf die spätere Betriebstemperatur einpegeln. Es wurde ein Dialysatfluß von ca. 2 l/min gewählt. Dieser wurde bis zum Ende der Perfusion nicht mehr verändert.

Um das Perfusat zu erwärmen, auf einen Hämatokrit von ca. 0,3 l/l einzustellen und andere Parameter (pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>) auf normale Werte zu kalibrieren, wurde der Perfusatkreislauf luftblasenfrei mit Perfusat gefüllt. Der Hämatokrit wurde in regelmäßigen Abständen durch Zentrifugation von Blutproben ermittelt.

Anschließend wurde die komplett kanülierte Niere angeschlossen (Abb. 4):

Die Pumpen wurden kurzzeitig abgestellt und zwei Schlauchklemmen so gesetzt, daß der bisher kurzgeschlossene Kreislauf zwischen Luftfalle und Perfusatreservoir (siehe schematische Abb. 5) geöffnet und die Niere mit der kanülierten Arteria renalis in Blutflußrichtung hinter der arteriellen Abnahme- und Meßstelle angeschlossen werden konnte. Zu diesem Zeitpunkt war noch kein Anschluß der kanülierten Nierenvene vorgenommen worden.

Die Niere wurde jetzt wieder erwärmt. Dazu wurde sie mit derselben Konservierungslösung wie schon bei der Organgewinnung 5 Minuten lang bei 38° C unter der jeweiligen Flußrate gespült, die einen online gemessenen arteriellen Perfusionsdruck von 80 mmHg zur Folge hatte.

Zusätzlich wurde das Organ in ein mit 38° C temperiertes Bad aus isotonischer Kochsalzlösung verlegt. Der Urin, soweit schon produziert, wurde gesammelt. Ab sofort wurde seine Menge mit dazugehöriger Sammelzeit dokumentiert.

Nun begann die eigentliche Perfusion bei einem arteriellen Blutfluß von zunächst 20 ml/min. Dieser Wert konnte über die Förderleistung der den arteriellen Schenkel der Perfusionsapparatur versorgenden Rollerpumpe reguliert werden. Die ersten 50 ml der venös austretenden Flüssigkeit wurden bei noch nicht geschlossenem Kreislauf verworfen, bevor dann der venös in die Niere eingebundene Katheter an den dem Reservoir zuführenden Schenkel der Apparatur angeschlossen wurde (Abb. 5).

Der Perfusionsdruck wurde mit Hilfe der Regulation des Flusses über die Rollerpumpenförderleistung während der gesamten Perfusion auf einem Niveau von 80 mmHg konstant gehalten [18]. Eine Viertelstunde nach Perfusionsbeginn erfolgte die erste Entnahme von arteriellem und venösem Blut und Urin und deren Analyse.

Von da an folgten weitere Messungen in viertelstündlichen Abständen. Die drei ersten Meßpunkte nach 45-minütiger Perfusion wurden als Phase der in hämodynamischer Hinsicht unveränderten Perfusionsbedingungen behandelt und definiert [16].



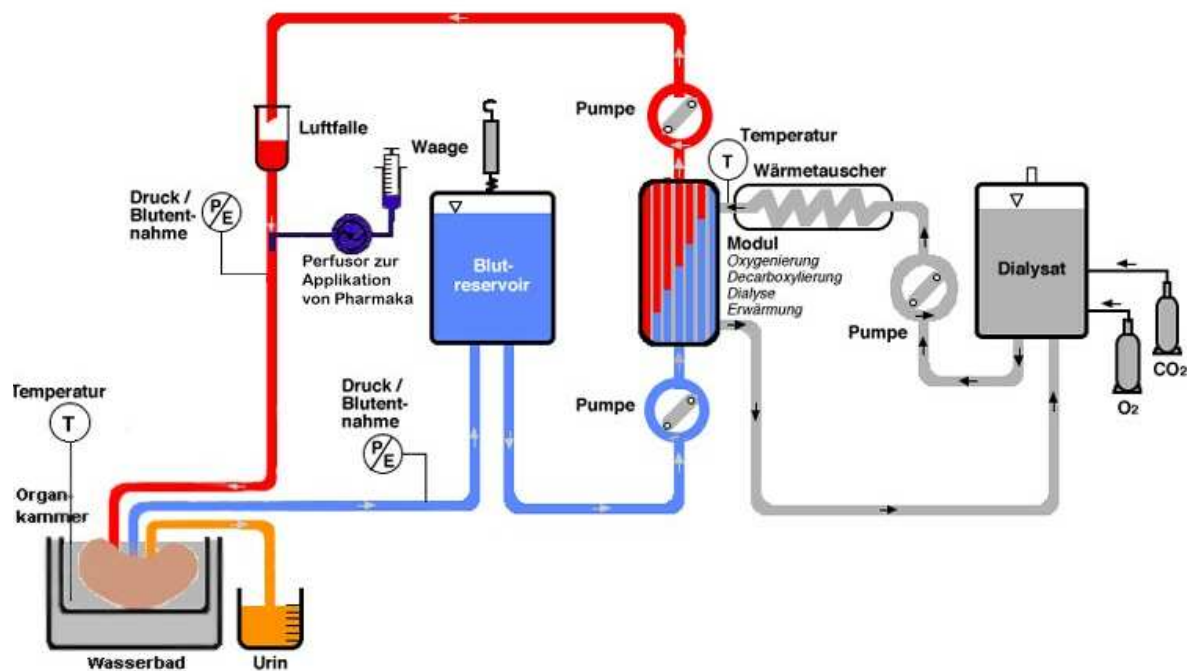


Abb. 5: Perfusionsapparatur für die normotherme isolierte Vollblutperfusion zuvor kältekonserverter Schweinenieren

Im weiteren Verlauf folgte je nach Gruppe die kontinuierliche Infusion des jeweiligen Pharmakons oder weitere Perfusion ohne Interaktion:

21 Nieren wurden nach der Anwärmphase für 45 Minuten mit unveränderten Perfusionsbedingungen in gleicher Weise perfundiert (s.o.). Anhand der daran anschließenden Vorgehensweise wurden die Nieren in drei Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1: „Referenz“ ohne pharmakologische Intervention: unverändertes Perfusionsschema nach 45 Minuten idem zur Phase der hämodynamisch nicht veränderten Perfusionsparameter.

Für die Berechnung der folgenden Dosierungen wurde ein Schweinedurchschnittsgewicht von 100 kg veranschlagt.

Gruppe 2: „Nitroprussid-Natrium“ mit Dauerinfusion von NN nach 45 Minuten über einen Zeitraum von 45 Minuten. Das Medikament wurde stets dunkel abgedeckt, um einen Photodegradationseffekt zu verhindern. Die Startdosierung betrug jeweils  $1,6 \mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$  Körpergewicht (KG). Daraufhin wurde je nach Reaktion der Niere eine Art Funktionstitration durchgeführt: Bei fehlender Reaktion des Perfusionsdruckes auf die Dauerinfusion wurde die Dosis in einem Schritt auf das Doppelte erhöht.

Gruppe 3: „Noradrenalin“ mit Dauerinfusion von NA nach 45 Minuten über einen Zeitraum von 45 Minuten. Die Startdosierung betrug 0,03 µg/min/kg KG und wurde wie beim NN bei fehlender Reaktion des Perfusionsdruckes auf die Dauerinfusion in einem Schritt auf das Doppelte erhöht.

Nach einer Perfusionszeit von jeweils insgesamt 145 Minuten wurde die Perfusion eingestellt und sofort die Probenentnahme für die pathologisch-histologische Untersuchung durchgeführt (s.u.).

### 2.3 Messungen

Alle 21 Nieren wurden nach der Anwärmphase für 45 Minuten mit unveränderten Perfusionsbedingungen in gleicher Weise perfundiert. Während dieses Zeitraumes wurden die hämodynamischen Funktionsparameter auf der Grundlage von viertelstündlichen Messungen bestimmt. Es wurden dazu der arterielle und venöse Perfusionsdruck registriert, die jeweils online mit Hilfe invasiver Meßtechnik registriert wurden, desweiteren die Förderleistung der Rollerpumpen stellvertretend für den renalen Blutfluß, der Hämoglobinwert (Hb) über ein BGA-Gerät und schließlich der Hämatokrit durch Blutzentrifugation in Zentrifugenglaskapillaren.

Die Perfusionsdrücke wurden linear skaliert gegen die jeweiligen Perfusionsflüsse in Diagrammen aufgetragen (vaskuläre Compliance). Jeweils in der Nichtinterventionsperiode und in der pharmakologischen Interventionsperiode wurde dazu der Perfusionsfluß in Schritten von 20 ml/min konsekutiv mit Adaptationspausen von jeweils 15 Sekunden erhöht. Die Veränderung des arteriellen Perfusionsdruckes wurde dabei registriert. Die Obergrenze für den Perfusionsfluß wurde so gewählt, daß der arterielle Druck einen Wert von 160 mmHg nie überschritt. Daraufhin wurde der Perfusionsfluß gleichermaßen in Schritten von 20 ml/min, ausgehend vom Grundperfusionsfluß von ca. 80 mmHg, reduziert und wieder der Perfusionsdruck registriert, hierbei wurde als Untergrenze für den Perfusionsdruck ein Wert von 40 mmHg festgelegt.

Zur Beschreibung der glomerulären und tubulären Nierenfunktion wurden in 15-minütigen Abständen die in Tabelle 1 aufgeführten Parameter gemessen bzw. aus den gemessenen Werten berechnet.

Im folgenden nicht beschriebene Laboruntersuchungen wurden von den Mitarbeitern des Zentrallabors der Charité, Campus Virchow-Klinikum durchgeführt.

Vor und nach der Perfusion wurden die Nieren netto, d.h. ohne Kanülierung gewogen.

Tab. 1: Gemessene und berechnete Parameter der Nierenfunktion. Alle Werte werden nachträglich umgerechnet auf 100g Nierengewicht (NG).

1	Perfusionswiderstand [mmHg*100gNG*min/ml] = mittl. Perfusionsdruck / Perfusionsblutfluß
2	Perfusionsplasmafluß [ml/(min*100gNG)] = Perfusionsblutfluß * (1-Hämatokrit [l/l])
3	Kreatininclearance [ml/(min*100gNG)] = Kreatininkonz. Urin * Harnzeitvolumen / Kreatininkonz. Plasma
4	Harnzeitvolumen [ml/(min*100gNG)] = Volumen des gesammelten Urins pro min.
5	Filtrationsfraktion [%] = Kreatininclearance * 100 / Perfusionsplasmafluß
6	Natriumtransport [mmol/(min*100gNG)] = ((Natriumkonz. Plasma * Kreatininclearance) - (Natriumkonz. Urin * Harnzeitvolumen)) / 1000
7	Sauerstoffverbrauch [mmol/(min*100gNG)] = arteriovenöse Sauerstoffdifferenz * Perfusionsblutfluß / 1000 / 22,4

Die zu den Phasensammelpunkten (ein Phasensammelpunkt auf 3 Meßpunkte, d.h. per 45 Minuten) gewonnenen Sammelurine wurden einer klinisch-chemischen Untersuchung mit Bestimmung der Proteinkonzentration sowie einer SDS-Gelelektrophorese unterzogen.

## 2.4 Statistik

Zur Errechnung der statistischen Signifikanz für den Vergleich der Werte im dem Perfusionsphasen wurde der Wilcoxon-Test herangezogen. Statistisch signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) wurden in den Abbildungen durch ein Sternchen (\*) gekennzeichnet.

## 2.5 Labormethoden

Zur Messung des Hämatokrits wurde mit dem vorsichtig aufgeschüttelten Blut eine Glaskapillare gefüllt, diese mit einem Stopfen einseitig verschlossen und bis zur vollständigen Trennung der korpuskulären von den nichtkorpuskulären Blutbestandteilen zentrifugiert. Der Hämatokrit wurde als volumenmäßig anteiliges Verhältnis von korpuskulären zu nichtkorpuskulären Blutbestandteilen in [l/l] ausgedrückt und in regelmäßigen Abständen gemessen, um einen Hämatokrit von 0,3 l/l einzuhalten.

Zur Kreatininbestimmung wurde Plasma durch 10-minütige Zentrifugation bei 3000 U/min von jeweils 2 ml Vollblut und Abpipettieren des zellfreien Überstandes

gewonnen. Der Sammelurin wurde ebenfalls durch Zentrifugation vom Urinsediment getrennt. Die Meßmethode basiert auf der photometrischen Jaffé-Reaktion unter Anwendung kinetischer Meßtechnik. Die Bildung des roten Farbkomplexes aus äquimolar Kreatinin und Pikrinsäure wird durch den Extinktionsanstieg bei 520 nm verfolgt. Der zur Kreatininkonzentration proportionale Wert  $dE/dt$  wird bei 25,6 Sekunden nach Reaktionsbeginn ermittelt, da die Reaktionsgeschwindigkeit im Bereich von Konzentrationen von 0,2 mg/dl bis 25 mg/dl linear proportional zur Kreatininkonzentration ist. Die Präzision dieser Meßmethode liegt bei 3% oder 0,15 mg/dl, je nachdem welcher Wert höher ist. (Auszug aus der Bedienungsanleitung Beckmann Kreatinin-Analysator 2) War durch Messung abzusehen, daß die Probe eine höhere Konzentration als 25 mg/dl aufwies, wurde diese mit Aqua dest. entsprechend verdünnt gemessen und der Meßwert anschließend mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert.

Zur Durchführung der Urin-Gelelektrophorese wurde das SDS-Phast-Gelelektrophorese-System von Pharmacia, Uppsala, Schweden mit homogenen Acrylamidgelen der Dichte 12,5% (Pharmacia) und zur Färbung Coomassie Blue R Staining (Pharmacia) verwendet. Die Gesamtproteinkonzentrationen der zu den Meßzeitpunkten gewonnenen und zwischendurch bei  $-80^{\circ}\text{C}$  tiefgefrorenen Urine wurde vom Zentrallabor der Charité, Campus Virchow-Klinikum bestimmt. Die Urine wurden durch Verdünnung mit Aqua dest. bzw. durch Konzentrierung (Centricon) auf Konzentrationswerte von annäherungsweise 5000 mg/l gebracht, um in der Färbung eine gute Sichtbarkeit der einzelnen Proteinbanden zu gewährleisten.

Als Standardmarker der Proteingrößen wurden hochmolekulare (HMW) und niedrigmolekulare (LMW) Proteinstandardmarker der Firma Pierce verwendet.

Anschließend wurden die Gele nach Anleitung mit Comassie-Blue-Staining gefärbt und fixiert und photographiert.

## 2.6 Histologie

Zur histologischen Untersuchung der Nieren wurden im direkten Anschluß an die Wägung der Niere nach Ende der Perfusion und Dekanülierung von jeder Niere mehrere Gewebescheiben unter Miterfassung von Rinde, Mark und Nierenbecken über Nacht in 5% iger gepufferter wäßriger Formaldehydlösung über Nacht fixiert.

Nach Einbettung des formalinfixierten Gewebes in Paraffin wurden ca. 5µm dicke Schnitte angefertigt, die alle standardmäßig mit Hämalaun-Eosin (H-E) und mit Hilfe

der Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) (Färbungen modifiziert nach Romeis [41]) gefärbt wurden.

Für die H-E-Übersichtsfärbung wurden die Schnitte in absteigender Xylolreihe (Merck) entparaffinisiert und in Aqua dest. gewaschen. Darauf folgte die ca. 5-minütige Kernfärbung in Mayerscher Hämalanlösung (Merck).

Nach Spülen in Aqua dest. wurde 10 Minuten lang unter fließendem Wasser gebläut. Es folgte ca. 10-minütiges Färben in Eosin (Chroma), Spülen in Wasser (5-10 min) und Differenzieren in 80%igem Äthanol (Merck). Nach zwei Mal 2-minütigem Waschen in 96%igem Äthanol und 3- bis 5-minütigem Waschen in Xylol wurden die Schnitte eingedeckt. Die PAS-Färbung dient der Darstellung neutraler Mukopolysaccharide, Polysaccharide, Muko- und Glykoproteine, Glykolipide, ungesättigter Fette und Phospholipide. Eine exakte Unterscheidung dieser Substanzen wird dadurch möglich, daß Glykogen durch Diastase gelöst wird, saure Mukopolysaccharide eine metachromatische Farbreaktion mit Thiazinfarbstoffen geben und Lipide sich im Paraffinschnitt als extrahierte Stellen darstellen. Es wurde wie oben entparaffinisiert und in Aqua dest. gespült. Danach wurde 5 Minuten lang in 0,5%iger wäßriger Perjodsäurelösung ( $\text{HJO}_5$ ) eingestellt (Merck). Nach der Spülung in Aqua dest. wurde 15 Minuten lang in Schiffischem Reagenz (Merck) eingestellt. Nach 3 Mal 2-minütigem Spülen in Sulfitwasser, 10-minütigem Spülen in Leitungswasser wurde abschließend in 96%igem Äthanol gewaschen und eingedeckt.

Alle Präparate wurden vor der Begutachtung, die von zwei unabhängigen Untersuchern durchgeführt wurde, geblindet und nach erfolgter Auswertung wieder den ursprünglichen statistischen Gruppen zugeordnet. Die Mikroskopie erfolgte in vierzigfacher Vergrößerung. Dabei wurde zunächst die Nierenrinde aufgesucht und dann bei 50 orthogonal angeschnittenen Tubuli pro Präparat der Prozentsatz der vom Parameter betroffenen Epithelzellen abgeschätzt: Ein Prozentsatz von bis zu 33% ergab einen Punkt, ein Anteil merkmalttragender Zellen von zwischen 33% und 66% entsprach zwei Punkten und drei Punkte wurden bei zwischen 66% und 100% betroffener Zellen vergeben. Dann wurde pro Parameter und Präparat ein Durchschnittswert der 50 beurteilten Tubuli gebildet.

Die Beurteilung erfaßte die folgenden Parameter (Tab. 2):

Tab. 2: IRI-Score, bewertete einfließende Parameter

Parameter	Score	Färbung	Bedeutung
Schwellung des proximalen Tubulusepithels	1 – 3 Punkte	H-E	Versagen der Natriumpumpe
Verlust des Bürstensaumes der proximalen Tubulusepithelzellen	1 – 3 Punkte	PAS	Frühes Zeichen der hypoxischen Schädigung
Dilatation des proximalen Tubulus	1 – 3 Punkte	H-E	Zeichen des akuten polyurischen Nierenversagens
Vakuolisierung der proximalen Tubulusepithelzellen	1 – 3 Punkte	PAS	Folge eines anaeroben Metabolismus
Nekrosen der proximalen Tubulusepithelzellen	1 – 3 Punkte	H-E	Zeichen des irreversiblen hypoxischen Schadens

Die Punkte flossen in Addition in einen Score ein, der auf einer Skala von 5-15 Punkten ein Ranking und eine quantitative Beurteilung des Ischämie-Reperfusionsschadens zuließ.

Zur Veranschaulichung wurde aus den drei Gruppen je eine Niere zufällig ausgewählt, ein Dünnschnitt mit H-E Färbung in 200-facher Vergrößerung photographiert und mit einem Graphikprogramm am Computer nachbearbeitet, um die dargestellten Veränderungen zu demonstrieren.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Allgemeines

Insgesamt wurden einundzwanzig Nieren von sechzehn Schweinen perfundiert und in die Auswertung einbezogen, davon in der Gruppe „Referenz“ ohne pharmakologische Intervention sechs Nieren, in der Gruppe „Nitroprussid-Natrium“ acht Nieren und in der Gruppe „Noradrenalin“ sieben Nieren.

Die Gesamtperfusionszeit aller 21 Nieren betrug jeweils 145 Minuten. Davon wurden 60 Minuten bis zum Erreichen konstanter Perfusionsbedingungen und darauffolgend 45 Minuten ohne Änderung der direkt regulierten Perfusionsparameter veranschlagt. Die bei der Beschreibung der Methoden angeführten Perfusionsbedingungen wurden bei allen Nieren eingehalten.

Die Nieren erlitten im Mittel eine warme Ischämie einer Dauer von  $16,5 \pm 4,3$  Minuten (MW  $\pm$  SD), die darauffolgende Konservierungsphase dauerte durchschnittlich  $6,6 \pm 1,9$  Stunden (MW  $\pm$  SD). Statistisch läßt sich kein signifikanter Unterschied in der Ischämie- oder Konservierungszeit zwischen den Gruppen erkennen. Die Nieren wogen vor der Perfusion  $214,3 \pm 58,0$  g (MW  $\pm$  SD).

In der Phase der nicht veränderten hamodynamischen Versuchsbedingungen ergaben die drei während dieser Zeit erhobenen Meßwerte das in Tabelle 3 wiedergegebene Bild:

Tab. 3: Mediane, Minima (Min) und Maxima (Max) von Parametern der Hämodynamik und der Nierenfunktion der 21 perfundierten Nieren während der Phase der unveränderten Versuchsbedingungen.

Parameter	Einheit	Median	Min	Max	n
Perfusionswiderstand	mmHg*min/(ml*100g)	0,66	0,28	1,09	21
Perfusionsplasmafluß	ml/(min*100g)	100,73	57,10	223,20	21
Kreatininclearance	ml/(min*100g)	12,44	2,15	39,90	21
Harnzeitvolumen	ml/(min*100g)	1,35	0,22	9,90	21
Filtrationsfraktion	%	11,96	1,75	60,70	21
Natriumtransport	mmol/(min*100g)	1,60	0,29	5,30	21
Sauerstoffverbrauch	mmol/(min*100g)	0,12	0,02	0,61	21

In der jeweiligen Interventionsphase der Gruppen „Nitroprussid-Natrium“ und „Noradrenalin“ kamen durchschnittlich folgende Pharmakondosierungen zur Anwendung:

Nitroprussid-Natrium: 1,6 bis 3,2 µg/min/kg KG

Noradrenalin: 0,03 bis 0,06 µg/min/kg KG

### 3.2 Funktionsparameter

In den Interventionsphasen beider Gruppen bzw. in der im Zeitverlauf entsprechenden Phase der Gruppe „Referenz“ ohne pharmakologische Intervention verhielten sich diese Parameter im Vergleich zur jeweiligen vorausgehenden Phase der nicht veränderten Perfusionsbedingungen folgendermaßen (Tab. 4, Abb. 6-12) :

Tab. 4: Übersicht der Parameter der Hämodynamik und Nierenfunktion in den Perfusionsphasen „Kontrolle“ und „Effekt“. Mittelwerte ± SEM. Dimensionen siehe Tab. 3.

		Kontrolle	Effekt
Perfusions- widerstand	REF	0,63 ± 0,04	0,61 ± 0,04
	NA	0,61 ± 0,04	0,80 ± 0,06
	NN	0,74 ± 0,05	0,65 ± 0,05
Perfusions- plasmafluß	REF	103,43 ± 4,78	107,17 ± 4,19
	NA	104,74 ± 5,94	87,45 ± 5,40
	NN	99,25 ± 10,55	112,31 ± 12,53
Kreatinin- clearance	REF	14,90 ± 1,07	15,97 ± 1,71
	NA	11,01 ± 0,83	9,48 ± 1,17
	NN	10,89 ± 1,59	6,31 ± 0,70
Harnzeit- volumen	REF	1,33 ± 0,28	1,65 ± 0,31
	NA	3,01 ± 0,63	3,33 ± 0,60
	NN	1,62 ± 0,23	1,10 ± 0,12
Filtrations- fraktion	REF	15,04 ± 1,58	14,72 ± 0,53
	NA	9,48 ± 0,82	9,47 ± 1,09
	NN	11,66 ± 1,38	6,30 ± 0,80
Natriumrück- resorption	REF	1,94 ± 0,22	2,13 ± 0,35
	NA	1,37 ± 0,18	1,17 ± 0,22
	NN	1,34 ± 0,30	0,79 ± 0,16
Sauerstoff- verbrauch	REF	0,18 ± 0,04	0,12 ± 0,01
	NA	0,17 ± 0,01	0,14 ± 0,01
	NN	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01



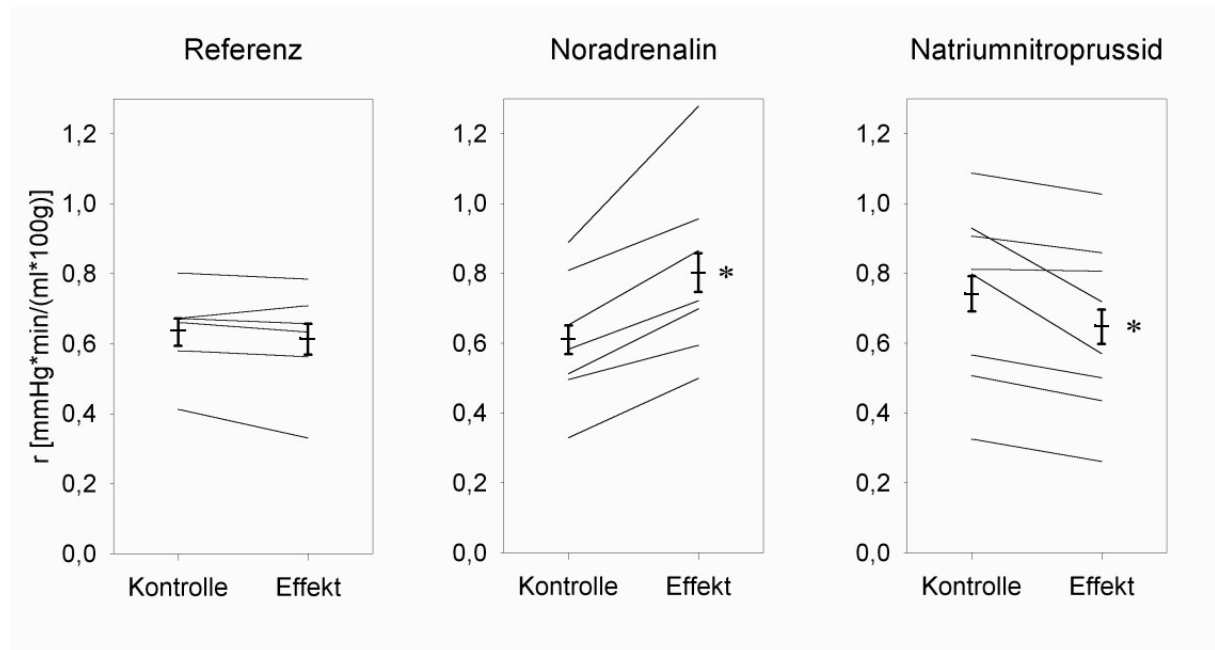


Abb. 6: Perfusionswiderstände (r) im Vergleich: Alle Nieren in der Kontrollphase (Kontrolle) im Vergleich zur jeweiligen Interventionsphase (Effekt) ohne Pharmakonapplikation (linkes Diagramm) bzw. unter Noradrenalin (mittleres Diagramm) und Nitroprussid-Natrium (rechtes Diagramm). Ausgangs- und Endpunkte der Kurven bezeichnen eine Phase von je 45 Minuten (jeweils die Mittelwerte aus 3 Meßpunkten).

Die Punkte links und rechts daneben bezeichnen die Mittelwerte der Meßwerte aller Nieren jeweils einer Gruppe in der Kontroll- im Vergleich zur Effektphase. Die Balken bezeichnen den Standardfehler.

Signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) während der Effektphase im Vergleich zur Kontrollphase sind mit einem Stern markiert. Alle Werte für den Perfusionswiderstand in  $[\text{mmHg} \cdot \text{min} / (\text{ml} \cdot 100\text{g Nierengewicht})]$ .

Der Parameter Perfusionswiderstand erhöhte sich unter NA bei allen Nieren ( $p < 0,001$ ).

Unter NN verminderte sich der renale Widerstand bei allen Nieren ( $p < 0,001$ ).

In der Referenzgruppe verminderte sich der Widerstand im Laufe des Versuches bei 5 von 6 Nieren leicht. Diese tendentielle Veränderung erreichte aber kein Signifikanzniveau ( $p = 0,328$ ). (Abb. 6)

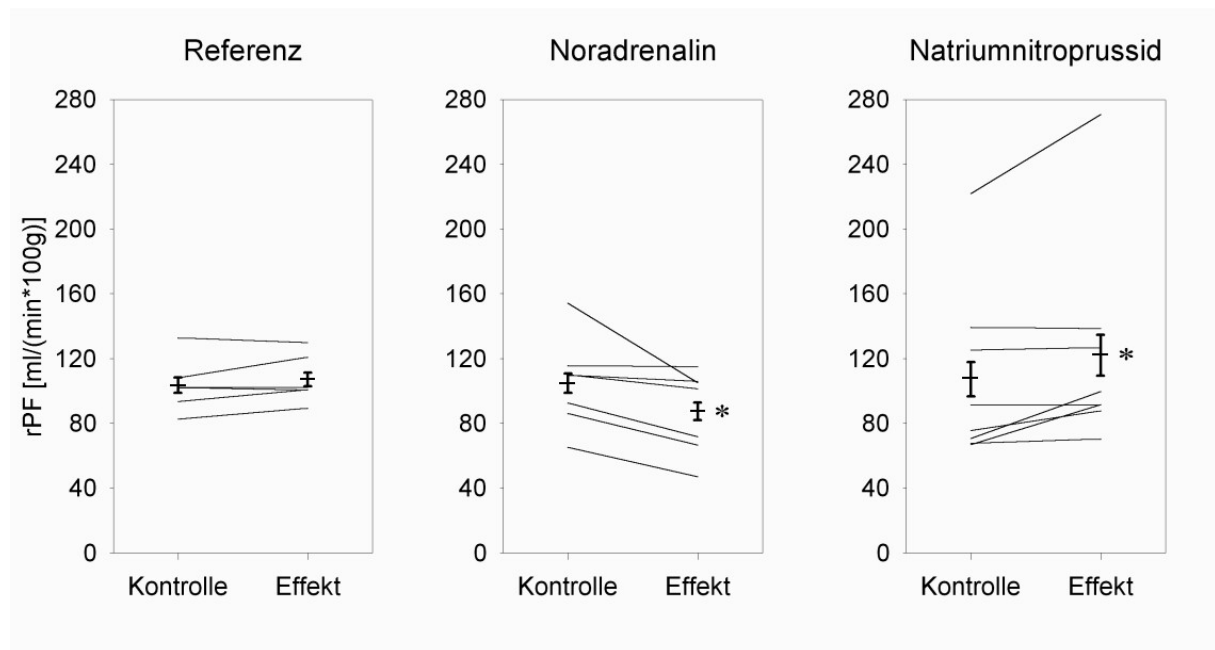


Abb. 7: Perfusionsplasmafluß (rPF), alle Werte in [ml/(min\*100gNG)]; Erläuterungen siehe Abb. 6

NN steigerte den Perfusionsplasmafluß bei 6 von 7 Nieren ( $p=0,002$ ). Bei einer Niere zeigte sich eine leichte Verminderung des Plasmaflusses.

Durch NA wurde dieser hingegen bei den Nieren gesenkt ( $p<0,001$ ).

In der Referenzgruppe ergab sich keine Veränderung im Laufe der Perfusion ( $p=0,169$ ). (Abb. 7)

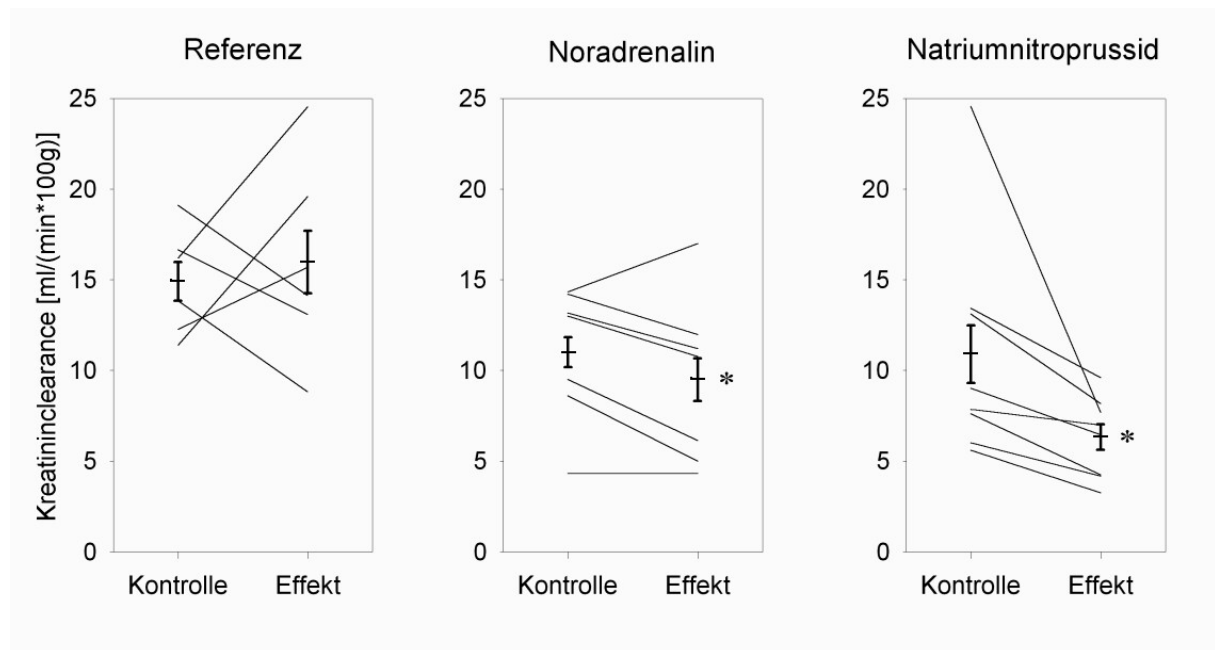


Abb. 8: Kreatinin-clearance, alle Werte in [ml/(min\*100gNG)]; Erläuterungen siehe Abb. 6.

Der Parameter Kreatinin-clearance als Annäherungsmaß für die glomeruläre Filtrationsrate wurde unter NA bei den Nieren gesenkt ( $p=0,012$ ). Eine der sieben Nieren zeigte hierbei einen gegenteiligen Effekt.

Die Applikation von NN hatte bei ausnahmslos allen Nieren eine Senkung der Kreatinin-clearance zur Folge ( $p=0,006$ ). In der Referenzgruppe erhöhte sich die Clearance im Mittel leicht, aber uneinheitlich im Laufe der Perfusion ( $p=1$ ). (Abb. 8)

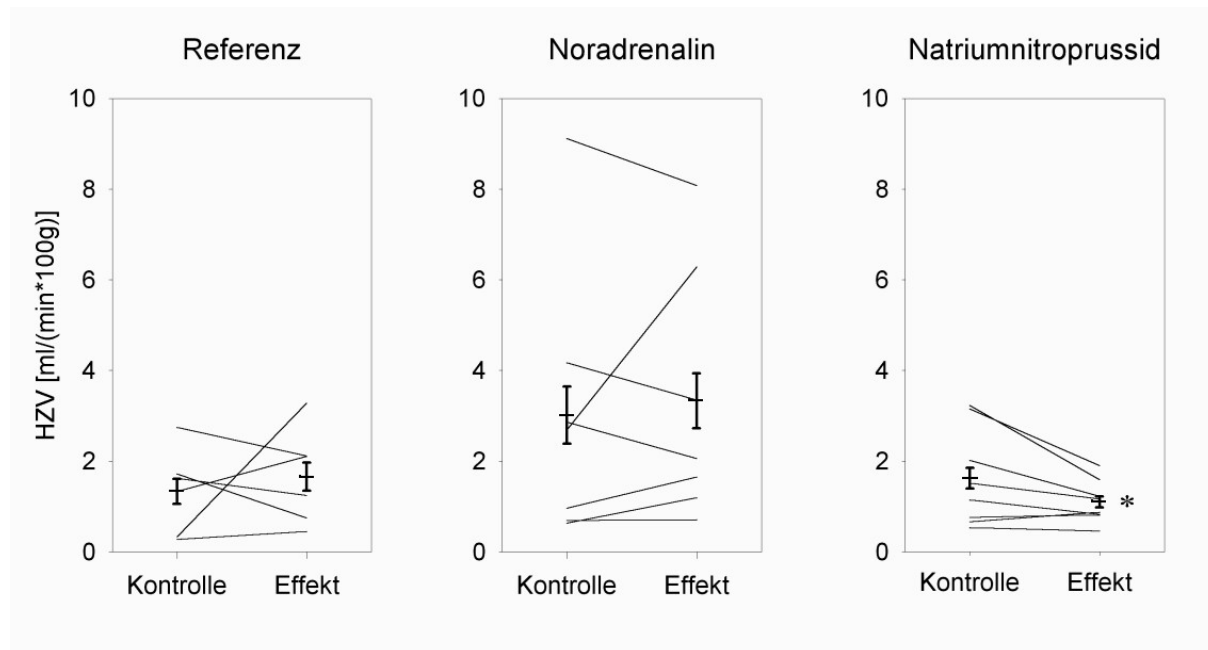


Abb. 9: Harnzeitvolumen (HZV), alle Werte in [ml/(min\*100gNG)]; Erläuterungen siehe Abb. 6.

Bei den Nieren der Referenzgruppe stieg das Harnzeitvolumen im Laufe des Versuches im Mittel leicht an, allerdings nicht signifikant ( $p=0,754$ ).

NA-Gabe hatte durchschnittlich ebenfalls eine leichte Steigerung des Harnzeitvolumens zur Folge ( $p=0,543$ ). Die Veränderung erreichte ebenfalls kein Signifikanzniveau, zwei Nieren verhielten sich gegensinnig, und der Anstieg war prozentual weniger deutlich als in der Referenzgruppe.

Unter NN zeigte sich außer bei zwei Nieren, die im übrigen nach der Pharmakonapplikation nahezu unveränderte Werte aufwiesen, eine signifikante Senkung des Harnzeitvolumens ( $p=0,023$ ). (Abb. 9)

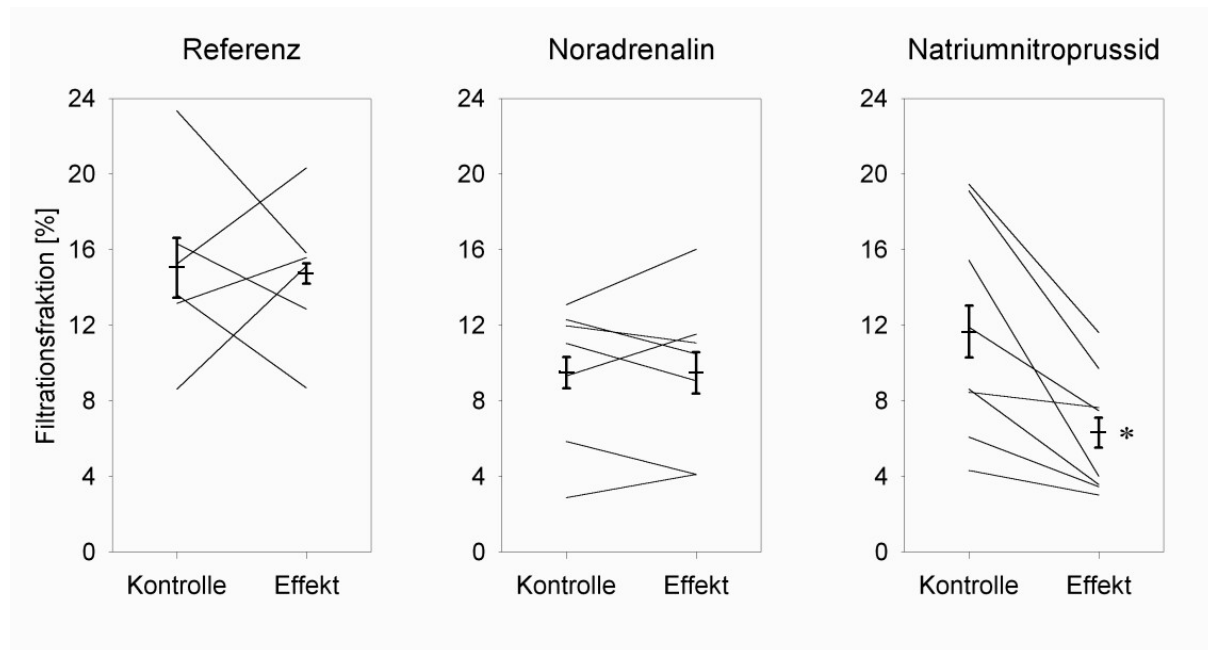


Abb. 10: Filtrationsfraktion, alle Werte in [%]. Erläuterungen siehe Abb. 6.

Die Filtrationsfraktion blieb im Durchschnitt unter NA annähernd gleich dem Ausgangswert ( $p=0,455$ ).

Auch bei der Referenzgruppe veränderte sie sich nur gering, ohne daß die Aussage Signifikanzniveau erreicht ( $p=0,583$ ).

Dagegen hatte die Applikation von NN eine deutliche und signifikante Verringerung der Filtrationsfraktion bei allen untersuchten Nieren zur Folge ( $p=0,001$ ). (Abb. 10)

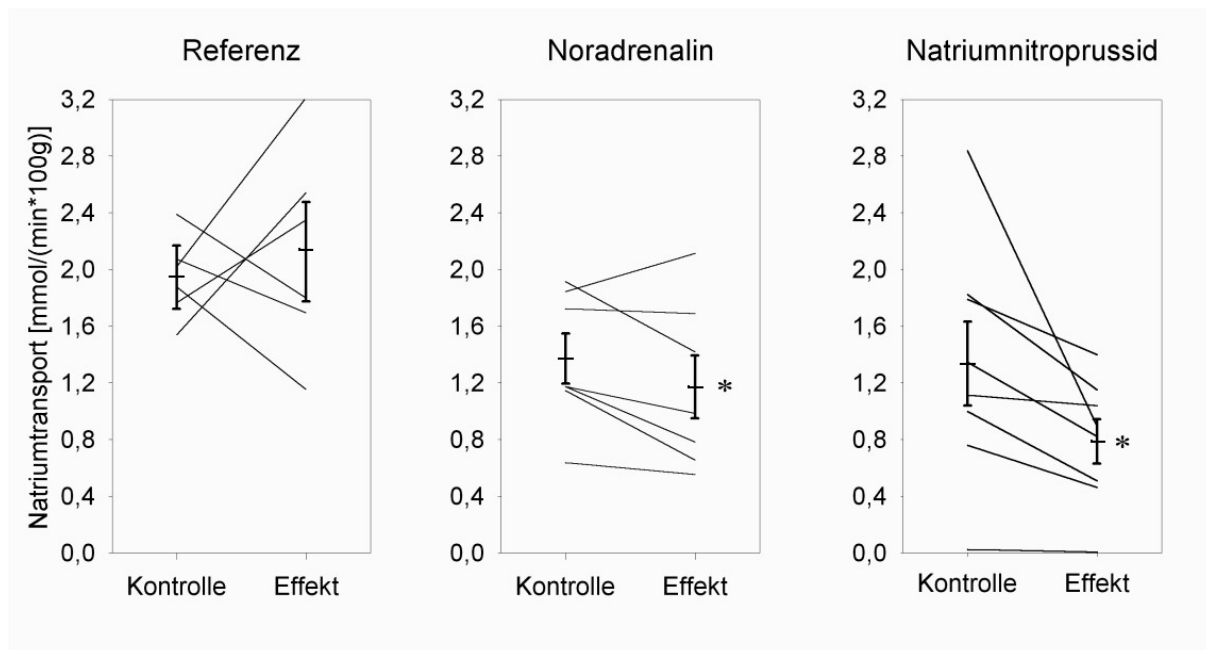


Abb. 11: Natriumtransport, alle Werte in  $\text{[mmol/(min} \cdot 100\text{gNG)]}$ ; Erläuterungen siehe Abb. 6.

Der Natriumtransport zeigte sowohl unter NA bei allen bis auf eine Niere eine signifikante Verringerung ( $p=0,031$ ), als auch unter NN ( $p=0,05$ ), hier ausnahmslos bei allen Nieren. Dabei ist die Verringerung unter NN stärker ausgeprägt als die unter NA.

In der Referenzgruppe fand eine nicht signifikante ( $p=0,488$ ) leichte Steigerung des Natriumtransportes statt. (Abb. 11)

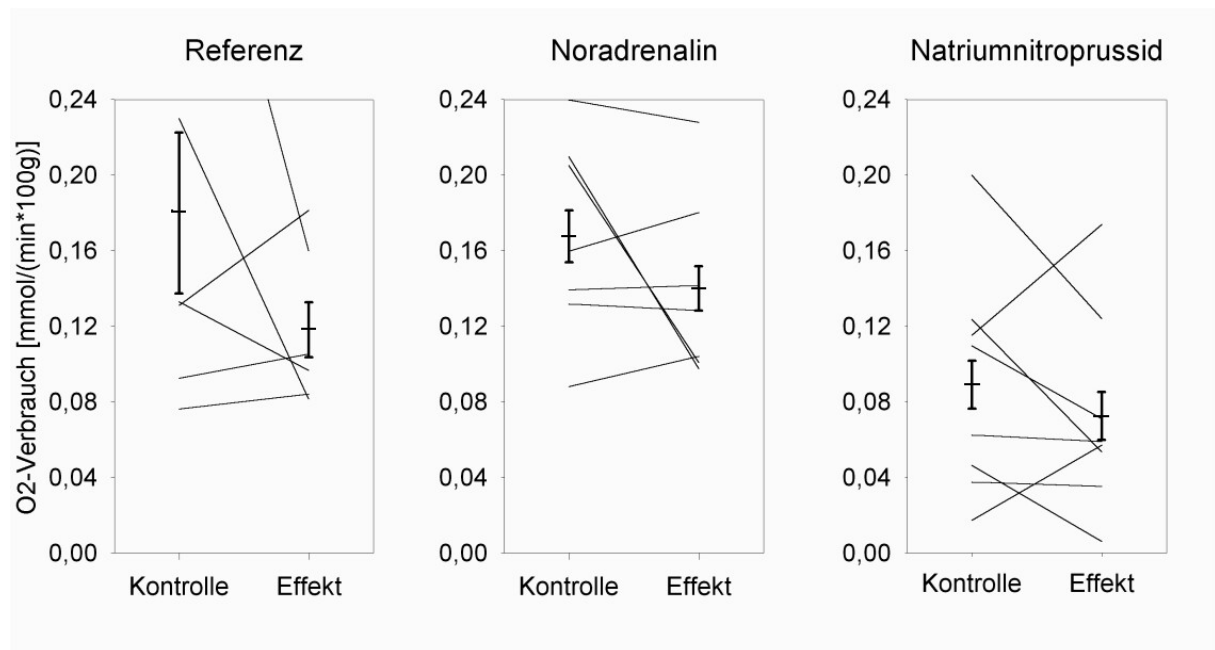


Abb. 12: Sauerstoffverbrauch, alle Werte in [mmol/(min\*100gNG)]; Erläuterungen siehe Abb. 6.

Im Sauerstoffverbrauch verhielten sich die Nieren in allen untersuchten Gruppen uneinheitlich. Als Trend war jedoch durchweg eine Senkung des Sauerstoffverbrauchs im Laufe der Perfusion erkennbar. Zwar ohne statistische Signifikanz, jedoch tendentiell ist auch zu beobachten, daß sich der Sauerstoffverbrauch im Laufe der Perfusion ohne Pharmakonapplikation jeweils stärker vermindert als unter den jeweiligen Pharmaka. Keine der Veränderungen erreichte Signifikanzniveau (NA:  $p=0,305$ ; NN:  $p=0,059$ ; Referenz:  $p=0,272$ ). (Abb. 12)

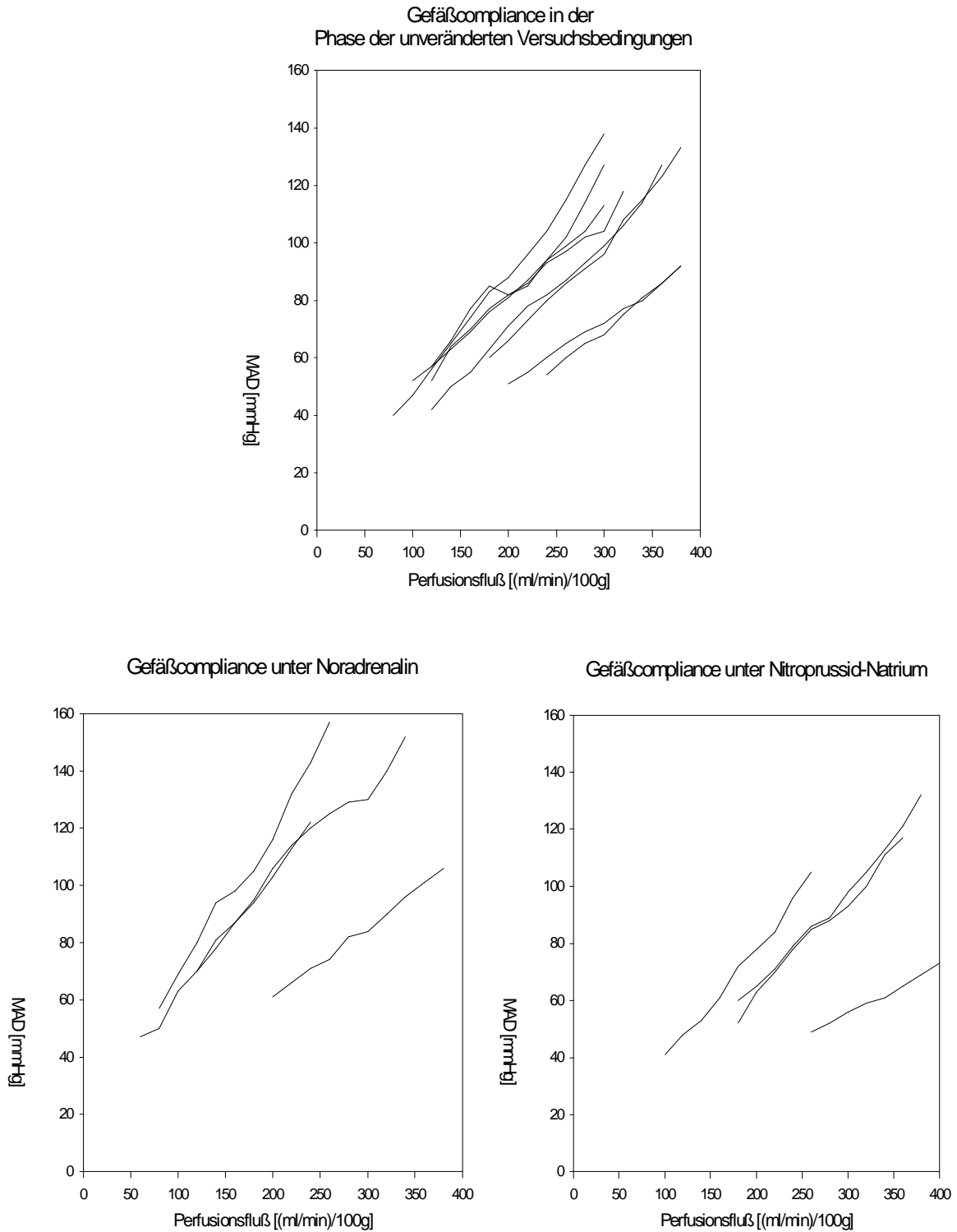


Abb. 13: Gefäßcompliance in der Phase der unveränderten Versuchsbedingungen (oben) im Vergleich zu den Phasen während der Pharmakonapplikation (Noradrenalin und Nitroprussid-Natrium). MAD = mittlerer Perfusionsdruck.



### 3.3 Gefäßcompliance

Die Gefäßcompliance während der Phase der nicht veränderten hämodynamisch bedeutsamen Versuchsbedingungen zeigte ebenso wie diejenige unter NN und NA bei allen Nieren weitgehend lineare Widerstandsverhältnisse in einem Bereich der Perfusionsdrücke von 40 mmHg bis 160 mmHg (Abb. 13).

Unter NN waren im Vergleich zu den Ausgangswerten insgesamt höhere Perfusionsflüsse nötig, um vergleichbare Perfusionsdrücke aufrechtzuerhalten. Unter NA war das Gegenteil der Fall: Höhere Drücke als in der Vergleichsphase wurden schon bei relativ niedrigen Perfusionsflüssen erreicht.

Die durchschnittliche Steigung der Compliance-Kurven lag bei den Nieren während der Periode der konstanten Perfusionsbedingungen ungefähr im Schnitt der durchschnittlichen Steigungen unter Gabe von NN und NA. Mit NN behandelte Nieren zeigten flacher verlaufende Compliancekurven, mit NA behandelte steiler verlaufende. (Abb. 13)

### 3.4 Gelelektrophorese

Einer Gelelektrophorese unterzogen wurden diejenigen Urinproben, die mit Hilfe von Verdünnung beziehungsweise Konzentrierung auf Proteinwerte von annäherungsweise 5000 mg/l eingestellt werden konnten. Daraus ergaben sich vollständige Probensätze bei 5 der 21 Nieren. Bei 4 von 21 Nieren ergaben sich 2 von 3 untersuchte Urinproben, bei 3 von 21 Nieren genau eine Urinprobe. Zur Darstellung kommt je Gruppe eine Niere mit jeweils zwei bzw. drei Elektrophoresen von Sammelurinen neben Elektrophoresen hoch- und niedermolekularen Proteinstandards. In der jeweiligen Tabelle unter den Abbildungen 14 - 16 werden jeweils wichtige Eckparameter zu den Sammelzeitpunkten dargestellt.

LMW bezeichnet den Proteinstandard mit niedrigen Molekülmassen, HMW den mit hohen Molekülmassen. PSP 1 bis 3 bezeichnen die jeweiligen Phasensammelpunkte.

kDa: Kilodalton, Kreatininclearance in  $[\text{ml}/(\text{min} \cdot 100\text{gNG})]$ ; Filtrationsfraktion in [%]; Natriumrückresorption und Sauerstoffverbrauch jeweils in  $[\text{mmol}/(\text{min} \cdot 100\text{gNG})]$ ; n/a: kein Wert erhebbar

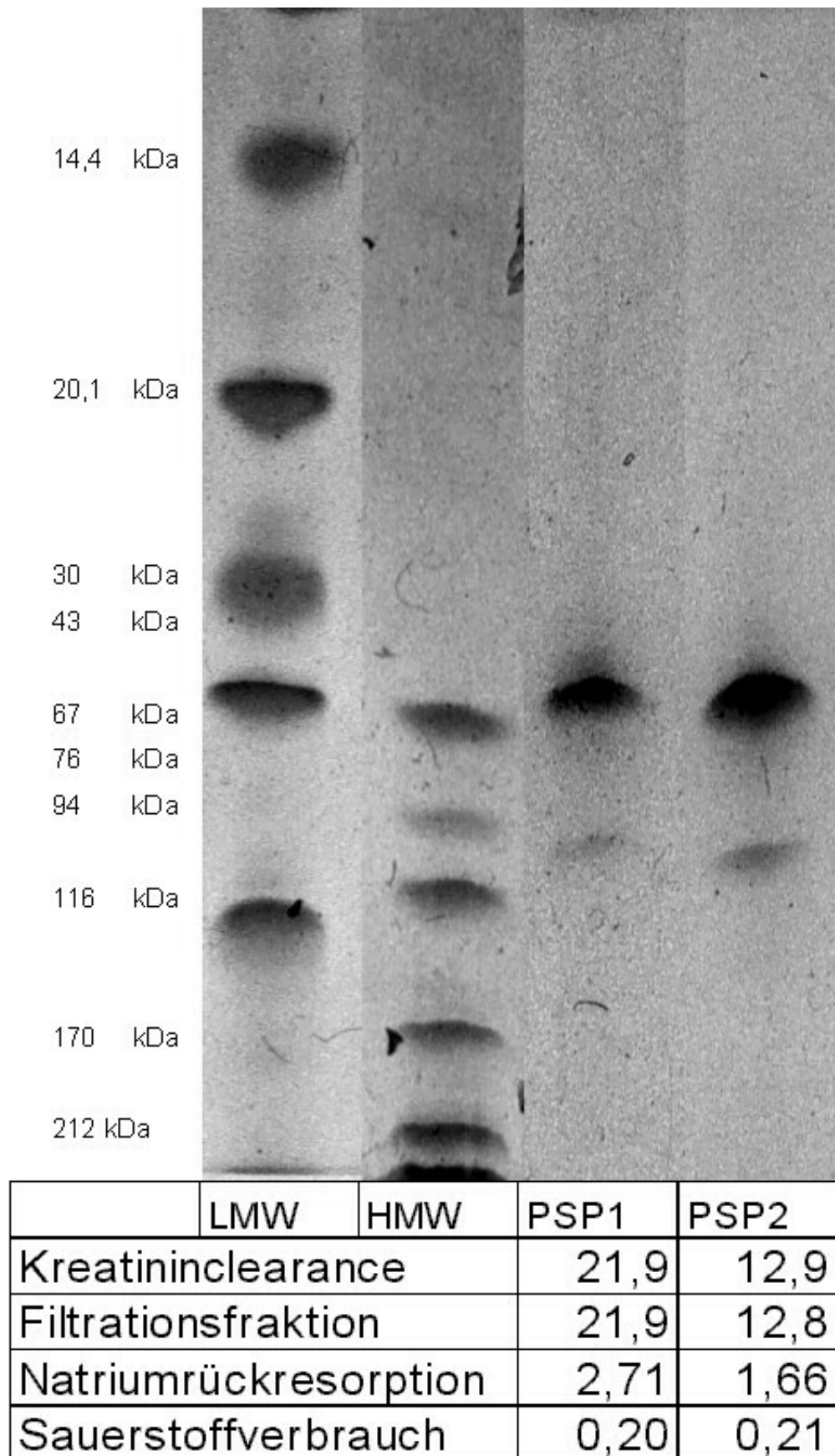


Abb. 14: Elektrophorese einer repräsentativen Niere aus der Gruppe „Referenz“ Erläuterungen siehe Text.

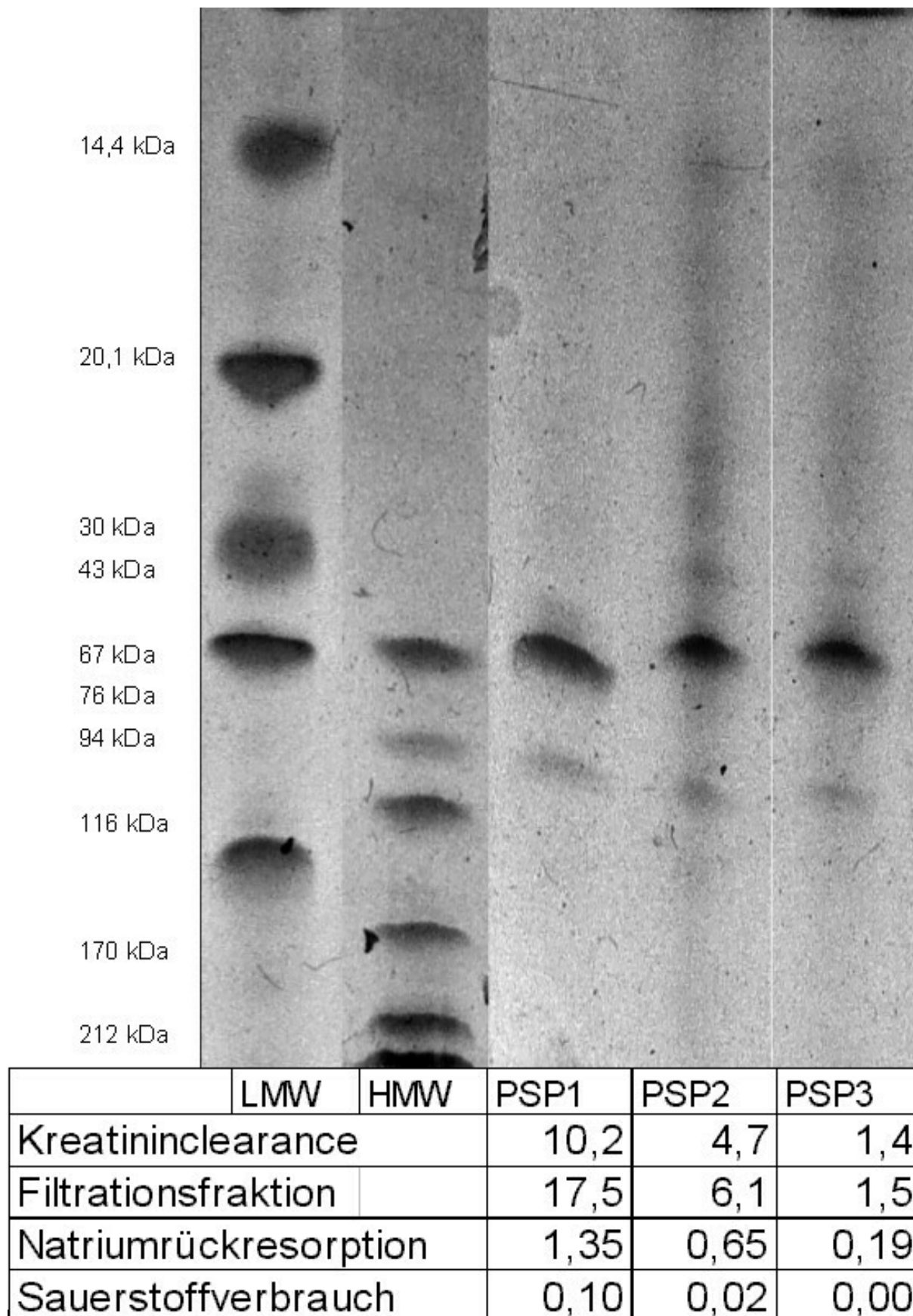


Abb. 15: Elektrophorese einer repräsentativen Niere aus der Gruppe „Nitroprussid-Natrium“; Erläuterungen siehe Text.

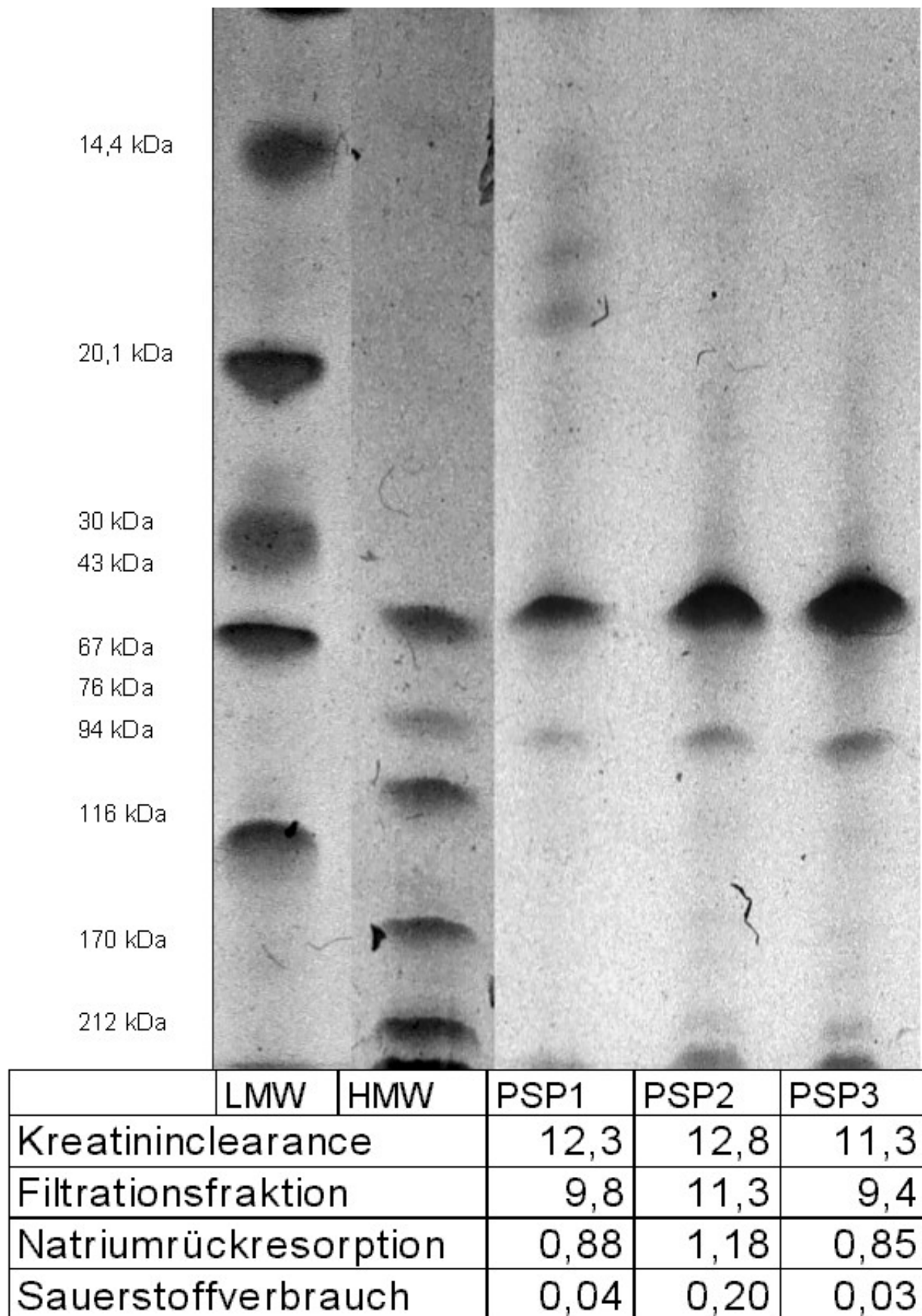


Abb. 16: Elektrophorese einer repräsentativen Niere aus der Gruppe „Noradrenalin“; Erläuterungen siehe Text.

Die Elektrophoresegele zeigen Banden von Proteinen verschiedener Molekulargewichte bis hin zu einem Gewicht von ungefähr 200 kDa. Der Durchschnitt der Proteinmengen im Urin betrug  $2742 \pm 1764$  mg/l (Mittelwert  $\pm$  SD). Zu Beginn der Perfusion sind die Banden relativ scharf begrenzt, später verwischen sich ihre Grenzen, so daß sie optisch zum Teil nicht mehr voneinander getrennt werden können. Die prominenteste Proteinbande ist bei einem Molekulargewicht von ca. 67 kDa zu erkennen (Abb. 14 bis 16).

### 3.5 Histologie

Von 20 Nieren wurden nach der Perfusion histologische Präparate angefertigt. Für eine Niere aus der Referenzgruppe konnte aus technischen Gründen kein Präparat angefertigt werden.

Die histologisch-anatomische Begutachtung der entnommenen Gewebeproben ergab unter Berücksichtigung des IRI-Scores, daß die Nieren der Referenzgruppe vergleichsweise niedrige Scores aufweisen, nämlich zwischen 5,7 und 8,4 (n=4). (Abb. 17). Für die unter NA perfundierte Gruppe tritt ein vergleichsweise höherer Wert auf. Der Unterschied zur Referenzgruppe ist allerdings nicht statistisch signifikant. Die Scores bewegen sich hier zwischen 7,1 und 9,2 (n=7). Die NN-Gruppe weist einen noch höheren Wert auf. Die Niere mit dem geringsten Score erreicht 7,4 Punkte, die mit dem höchsten 10,2 (n=8).

Die Abbildungen 18 bis 20 sollen beispielhaft den histologischen Zustand der Nieren aus den 3 Gruppen illustrieren. Zur Darstellung kommt pro Perfusionsgruppe jeweils ein repräsentativer Nierendünnschnitt aus dem Bereich der Nierenrinde in H-E-Färbung (Abb. 18 bis 20).

Abb. 18 zeigt eine Niere der Gruppe ohne Pharmakonapplikation ohne deutliche Schäden. Das proximale Tubulusepithel ist leicht vakuolig verändert, der Bürstensaum aber intakt. Die Tubuli sind nicht nennenswert dilatiert. In den Abb. 19 und 20 kann man im Vergleich dazu Unterschiede erkennen:

Die mit NN perfundierte Niere zeigt nach der Perfusion vor allem grobvakuolige Veränderungen, die mit NA perfundierte Niere vor allem eine Dilatation der proximalen Tubuli.

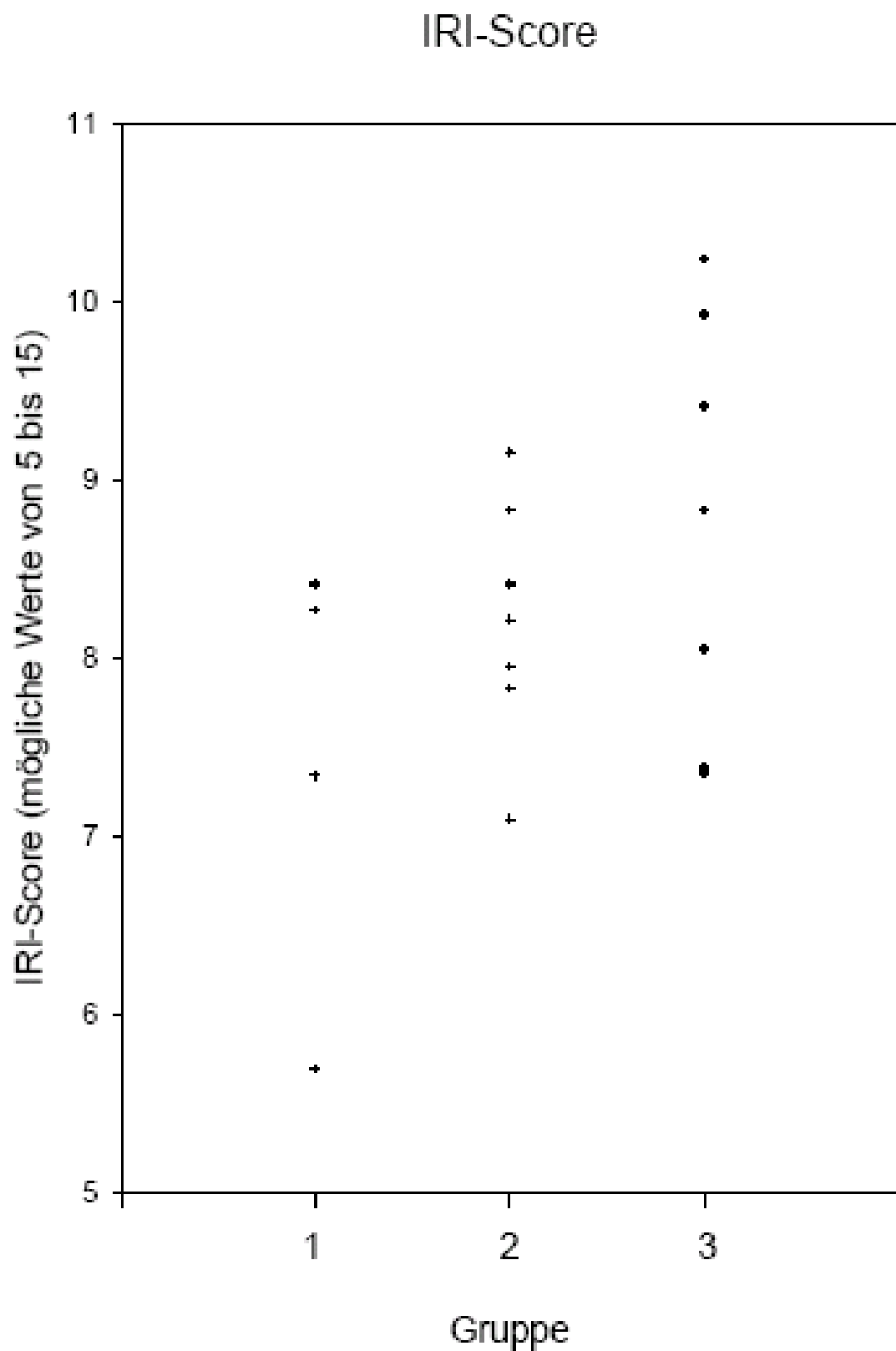


Abb. 17: IRI-Score für die Nieren der drei Perfusionsgruppen. Gruppe 1: Referenz, Gruppe 2: Noradrenalin, Gruppe 3: Nitroprussid-Natrium



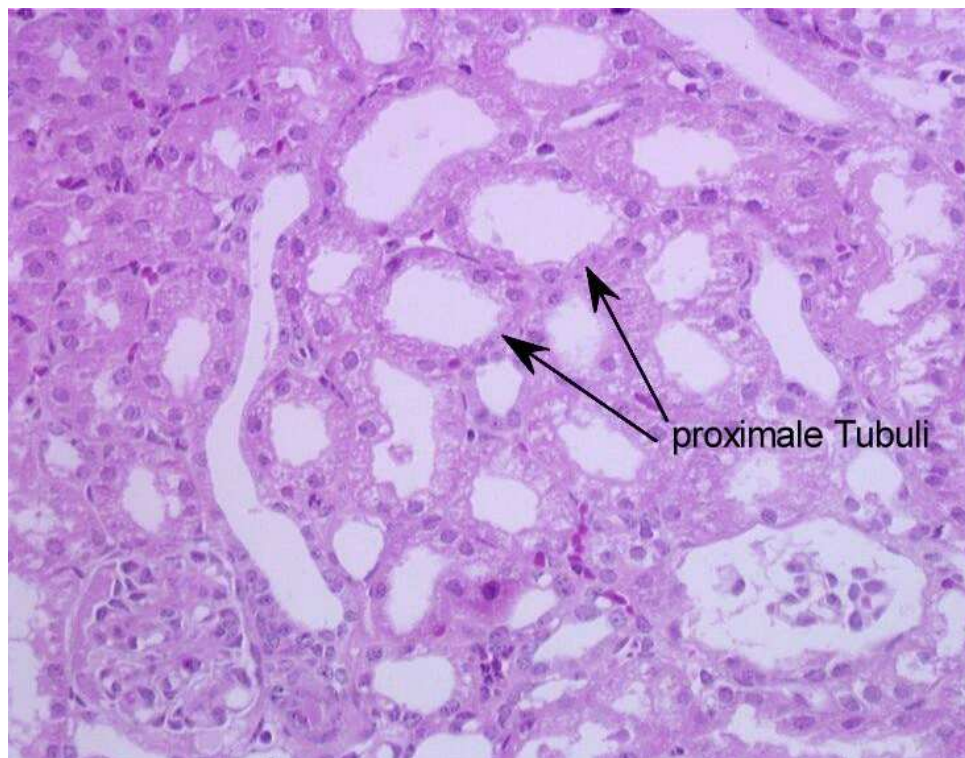


Abb. 18: Histologischer Schnitt der Nierenrinde einer Niere aus der ohne Pharmaka perfundierten Gruppe. H-E-Färbung, Vergrößerung 1:200

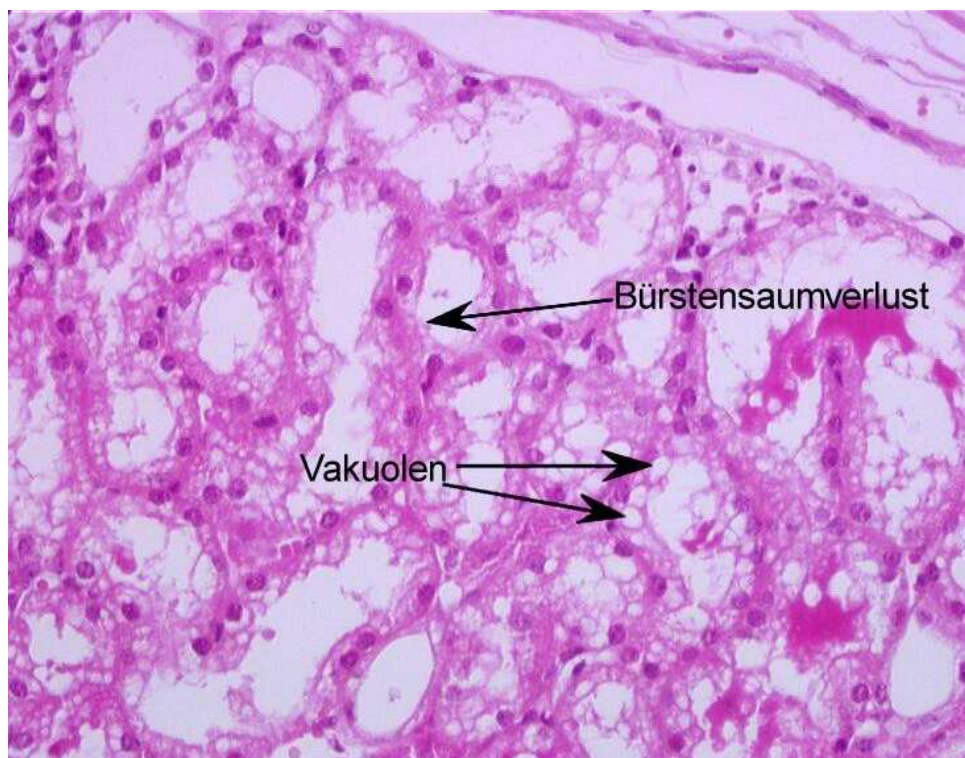


Abb. 19: Histologischer Schnitt der Nierenrinde einer Niere aus der Gruppe „Nitroprussid-Natrium“. H-E-Färbung, Vergrößerung 1:200



Abb. 20: Histologischer Schnitt der Nierenrinde einer Niere aus der Gruppe „Noradrenalin“. H-E-Färbung, Vergrößerung 1:200



## 4 Diskussion

### 4.1 Perfusionsmodell

Zur Diskussion der Ergebnisse müssen die Charakteristika unserer Perfusion erwogen werden, die sie von anderen vergleichbaren Modellen abgrenzen oder sie in den Kontext anderer Modelle einordnen.

Die hohe Streubreite der Parameter in der ersten Phase der Perfusion ist ein auffälliges Merkmal unserer Versuche. Die Gründe dafür können zum einen in der Versuchssystematik liegen und zum anderen organimmanent sein. Die Schweine wurden allesamt in manueller Einzelschlachtung geschlachtet und stammen so aus der Zucht verschiedener brandenburgischer Landwirte. Sie sind also nicht wie Versuchstiere herkömmlicher Versuchsmodelle in Gewicht, Alter und Geschlecht standardisiert. Daher wurde ein Nierengewicht von 100g als Bezugsgröße verwendet.

Es liegt eine relativ hohe Streubreite der Nativgewichte der einzelnen Nieren vor, so daß das Gewichtsverhältnis von Nierenrinde und Mark dementsprechend stark variiert. Daß Rinde und Mark unterschiedlich stark von Ischämie betroffen sind, liegt an der geringen Durchblutung sowie dem hohen Sauerstoffverbrauch des Nierenmarks [42], [15]. Dieser Punkt wird weiter unten im Zusammenhang mit dem Punkt der Autoregulation diskutiert.

Aber auch die grundsätzlichen Unterschiede in Zucht und Mast inklusive von unterschiedlichen Haltungsbedingungen können Auswirkungen auf den Ernährungszustand und die Gesundheit der Tiere haben. Zum Beispiel stellt proteinreiche Kost einen Risikofaktor für renale Glomerulosklerose dar [43]. Antibiotika mit ihren pharmakologischen Sekundärwirkungen und das sogenannte porcine stress syndrome [44] unter anderem mit Auswirkungen auf den kardiopulmonalen Zustand der Schweine sind hier zu nennen.

Während der warmen Ischämiezeit hat die Niere zwar noch annähernd Körpertemperatur und somit einen Metabolismus, das Endothel steht aber nur mit dem nicht zirkulierenden intravasalen Blut in Kontakt.

Während der sich daran anschließenden Konservierungszeit (kalte Ischämie) ist die Niere an allen Oberflächen und am gesamten Endothel mit gekühlter kaliumreicher Konservierungslösung in Berührung und hat keine zirkulierende Blutversorgung.

Der Stoffwechsel im Organ ist jetzt stark eingeschränkt [10, 45]. Die Niere reagiert weitaus empfindlicher auf warme als auf kalte Ischämie. Wenige Minuten Unterschied in der Konservierungsdauer haben bei weitem nicht so große Unterschiede in der Reperfusionsschädigung zur Folge wie wenige Minuten Unterschied in der warmen Ischämie [46].

Die letztere ist in unserem Modell weitgehend durch den Arbeitsvorgang und die Organentnahme aus dem Tier im Schlachthof vorgegeben und dauert naturgemäß länger als in vergleichbaren Perfusionsmodellen mit Organen von operierten Versuchstieren. Die Mindestdauer der kalten Ischämie ist ebenfalls vorgegeben, und zwar durch die Dauer des Transportes der Organe zum Ort der Perfusion.

Aus einer langen Phase der Ischämie, sowohl in ungekühltem als auch in gekühltem Zustand der Nieren, resultiert nach Reperfusion eine entsprechend große Schädigung [47, 48, 49, 50, 51], wobei die Kühlung während der relativ langen Phase der Konservierung vor einem potentiell noch größeren Schaden schützt [46]. Auch die Zusammensetzung der Konservierungslösung hat hier einen großen Einfluß [52].

Bei diesem Reperfusionsschaden im Rahmen der Wiedererwärmung steht die Schädigung des vaskulären Endothels pathophysiologisch im Vordergrund. Die Migration aktivierter Leukozyten [53] - vermittelt durch vom Endothel produzierte Interleukine - die Bildung freier Sauerstoffradikale durch das Endothel und deren zerstörerische Wirkung [54], Zytokine und Komplement sowie das durcheinandergebrachte Niveau von NO [55, 56] und Endothelin [53, 57] sind nach einhelliger Meinung für den diskutierten Schaden verantwortlich. Das autokrine Hormon Endothelin wirkt extrem stark vasokonstriktiv und vermindert somit die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung. NO wirkt in einer Studie von Linas bei Anwesenheit von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten während der Reperfusion protektiv auf die Nierenfunktion, bei Abwesenheit dieser Zellen wird der Reperfusionsschaden verstärkt [40].

Während der einleitenden Phase der unveränderten Perfusionsbedingungen weisen glomeruläre und tubuläre Parameter auf eine solche Schädigung der Niere in unserem Modell hin.

Bei uns liegt in der ersten Perfusionsstunde der mediane Widerstand bei 0,66 mmHg\*min/(ml\*100gNG), was nur relativ moderat höher ausfällt als bei dem wohl am besten vergleichbaren Modell von Breimer [11] (dort  $0,57 \pm 0,19$ ), obwohl sowohl warme Ischämie (Breimer 1-2 min, bei uns 16,5 min) als auch Dauer der kalten

Konservierung (Breimer 45 min, bei uns 6,6 h) hier bedeutend länger dauerten. Auch z.B. bei dem Modell der isolierten Rattenniere von Lieberthal ist nach Ischämie der renale Widerstand erhöht [39].

Die durch Infusion der kalten Konservierungslösung ausgelöste Vasokonstriktion hat wahrscheinlich einen wesentlichen Einfluß auf den erhöhten Grundwiderstand zu Beginn der Reperfusion, zumal dieser ja auch im weiteren Verlauf rasch absinkt, wie auch bei Breimer [11].

Die im Verlauf unserer Perfusion im Vergleich deutlichste Widerstandssenkung in der frühen Reperfusionsphase ist auf verschiedene Ursachen zurückzuführen: Nach ca. 7-8 Minuten ist bei unseren Nieren mit 38° C eine konstante Temperatur erreicht. Der Widerstand sinkt im weiteren Verlauf noch weiter ab, insgesamt jedoch nicht bis auf ein normales Niveau. In anderen Arbeiten ist bei postischämischen Zuständen ähnliches zu beobachten [27]. Eine rein mechanische Elastizitätserhöhung der Gefäßwände bei Wiedererwärmung auf eine für den Körper normale Temperatur kann einerseits der Grund dafür sein, andererseits läßt die Temperaturerhöhung Ionenkanäle und membranständige Transportproteine sowie die assoziierten biochemischen Reaktionen auf ihre ideale „Betriebstemperatur“ kommen [58]. Breimer führt die Widerstandssenkung komplett auf die Temperaturerhöhung während der Reperfusion zurück [11]. In unserem Modell spielt sicherlich auch die Zugabe von Verapamil zum Perfusionsmedium eine Rolle, was an anderer Stelle diskutiert wird.

In der zweiten Perfusionsstunde bleiben die Nieren der Referenzgruppe, die hämodynamischen Parameter Perfusionsdruck, Perfusionsfluß und renalen Widerstand betreffend, weitgehend auf konstantem Niveau, was wohl mit den konstanten Perfusionsbedingungen und der Aufrechterhaltung des Perfusionsdruckes durch Flußregulation begründet werden kann.

Die fehlende Nierengefäßcompliance weist auf einen vollständigen Defekt der renalen Autoregulation in unserem Modell hin. Autoregulation scheidet als Grund für die Konstanz also weitgehend aus, was aber ein zusätzliches Indiz für in engen Grenzen eingehaltene Perfusionsvoraussetzungen ist.

Im Bereich der normalerweise auf Perfusionsdruckschwankungen reagierenden Gefäßwiderstände sind die Gefäße bei den untersuchten Nieren non-compliant.

Das kann auf einen Defekt im von der Macula densa abhängigen glomerulären Feedbackmechanismus hinweisen. Dieser kann entweder durch ischämische

Schädigung der Zellen der Macula densa verursacht sein, durch Erschöpfung der für den Feedback notwendigen Transmitter oder durch das Verapamil. Letzteres inhibiert den kalziumabhängigen Mechanismus zur Einstellung des Gefäßtonus. Es schränkt so auf dieser Ebene die Gefäßreagibilität ein und verhindert den Kalziumeinstrom in die Gefäßmuskelzelle, welcher normalerweise eine Konstriktion des Gefäßes bewirkt.

Unter den Widerstandsgefäßen befinden sich nur an der afferenten Arteriole Kalziumkanäle [59], und nach Navar wird der Hauptanteil der renalen Autoregulation vom tubuloglomerulären Feedback geleistet [60], das über die afferente Arteriole als Effektor reguliert wird. Demnach muß davon ausgegangen werden, daß durch Verapamil die vaskuläre Autoregulationsfähigkeit stark eingeschränkt wird.

Die beiden Tatsachen, daß die Niere denerviert ist und daß sie sich im Zustand des akuten ischämischen Nierenversagens befindet, wie weiter unten besprochen, sind als zusätzliche Erklärungsansätze für die fehlende Autoregulation heranzuziehen [61, 62, 63].

In einigen Arbeitsgruppen [64] unterscheiden sich die renalen Blutflüsse in der prä- und postischämischen Phase nicht signifikant voneinander. Williams führt als Hypothese dafür eine intakte Nutzung der Autoregulationsreserve der renalen Gefäße an. Unter normalen Bedingungen behält das renale Gefäßsystem auch bei hohen Druckschwankungen eine bemerkenswerte Blutflußkonstanz durch reziproke Arteriolenwiderstandsregulierung [65]. Die Druckspanne, in der die Durchblutung nahezu konstant bleibt, liegt beim nierengesunden Menschen bei 80-180 mmHg [66]. Es gibt grundlegend zwei Erklärungsansätze für das Phänomen der renalen Autoregulation. Der ältere, postuliert bereits im Jahre 1902 von Bayliss [67], geht von einer rein vaskulären intrinsischen Regulation durch die glatte Muskulatur aus. Navar [60] hingegen erklärt die renale Autoregulation durch einen Feedbackmechanismus unter Beteiligung der Macula densa und des Renin-Angiotensin-Systems, bei dem im distalen Nephron die Konzentrationen von Soluten „gemessen“ werden und so eine kalziumvermittelte Regulation des Gefäßtonus in den afferenten Arteriolen zustandekommt. Dieser sogenannte tubuloglomeruläre Feedbackmechanismus funktioniert unter Einbeziehung des Na/K/2Cl Cotransporters [68].

Dieser Erklärungsansatz kann allerdings auch ergänzend oder präzisierend zu dem von Bayliss gesehen werden.

Persson wiederum postuliert, daß die Hauptregulatoren des renalen Blutflusses bereits in den Arteriae arcuatae und Arteriae interlobulares zu suchen sind [59]. Eine Übersicht der Theorien zur Erklärung des Phänomens liefert Johnson [69].

Bei unseren Versuchen finden sich keine Unterschiede in der Gefäßcompliance im normalerweise autoregulierten Bereich zwischen den mit den unterschiedlichen Substanzen perfundierten Gruppen. Wenn, wie bei Cohen [65] vorausgesetzt, Verapamil gleichermaßen wie eine Ischämie durch relative Vasokonstriktion die Fähigkeit der Niere zur Autoregulation vermindert, müßten die NN-Nieren noch besser autoregulieren können. Das unterstreicht weiterhin den starken Einfluß des Verapamils in unserer Anordnung.

Die Werte für das Harnzeitvolumen beschreiben bei allen Nieren den Zustand einer ausgeprägten Polyurie mit eingeschränkter Urinkonzentrationsfähigkeit. Hierfür sind mehrere Ursachen wahrscheinlich:

Zum Ersten fehlt der dem Gesamtorganismus entnommenen denervierten Niere die autonome Nervenversorgung und der Feedbackmechanismus mit Hypothalamus und Hypophyse, der über die Ausschüttung des Hypophysenhinterlappenhormons Adiuretin und über den Blutweg für gewöhnlich die Rückresorption von Wasser im distalen Tubulus stimuliert. Unser Modell ist also auf dieser Ebene vergleichbar mit dem Zustand der Niere bei einem Diabetes insipidus centralis [18].

Zum Zweiten kann die ischämische Schädigung von membranständigen Transportproteinen diskutiert werden. Hier ist vor allem die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase an der basolateralen Membran der Tubuluszellen [18] zu betrachten, deren Aufgabe es unter anderem ist, einen Osmolalitätsgradienten für den Wasserausstrom aus der Zelle herzustellen bzw. anderen entgegengerichteten Gradienten entgegenzuwirken. Normalerweise herrscht im peritubulären Raum des Nierenmarkes eine hohe Osmolarität, die für die Urinkonzentrierung verantwortlich ist [18]. Der Ausfall des Antiporters durch ischämische Schädigung bewirkt eine Verringerung der Osmolarität im peritubulären Raum des Nierenmarkes. Es entsteht ein Ionenkonzentrationsgradient, und Wasser strömt in die Zellen oder in das peritubuläre Gewebe ein. Der Interzellularraum des Nierenmarkes ist nach der Spülung mit Konservierungslösung nicht mehr mit einer ausreichend hohen Osmolarität ausgestattet, um das Ultrafiltrat zu Urin in normalosmotische Grenzen zu konzentrieren.

Das Nierenmark wird für gewöhnlich in konstantem Maße perfundiert. Durch zusätzliche Rekrutierung von Nephronen der Nierenrinde, welche üblicherweise ein geringer osmolares Milieu aufweist oder durch eine ungewöhnlich niedrige Osmolarität des Nierenmarkes kann entsprechend das Ultrafiltrat nicht in demselben Maße wie vorher konzentriert werden [59].

Ein weiteres Argument ist die in unserem Modell für die Perfusion durchgeführte Dilution des Blutes. Der effektive Filtrationsdruck resultiert aus der Differenz aus Perfusionsdruck und kolloidosmotischem Druck in den glomerulären Kapillaren. Letzterer liegt bei entsprechender Wasserverdünnung des Perfusionsmediums niedriger als unter normalen Umständen, was den effektiven Filtrationsdruck anhebt und so zu einer vermehrten Filtration führt.

Die mehr oder weniger ausgeprägte überwiegend selektive Proteinurie, die sich in der Elektrophorese des Urins bei allen untersuchten Nieren in allen Perfusionsphasen zeigt und im Verlauf der Perfusion einen vergleichsweise unselektiveren Charakter annimmt sowie die Art der ausgeschiedenen Proteine lassen bedingt auf den Ort der Schädigung schließen: Es zeigt sich tendentiell das Bild eines im Perfusionsverlauf kontinuierlich zunehmenden glomerulären Schadens. Zunächst werden überwiegend Albumin und Transferrin ausgeschieden, zwei wichtige Marker des Glomerulumschadens wie beim Nephrotischen Syndrom [70], später auch weniger selektiv andere Proteine. Diese Aussage ist eine qualitativ-abschätzende. Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen konnten zudem nicht festgestellt werden. Über die Pathogenese des Glomerulumschadens gibt es unterschiedliche Ansichten. Kirklin verweist auf Komplementaktivierung durch ischämisch geschädigte Oberflächen [71], Linas auf schädigende Wirkung der polymorphkernigen Neutrophilen [40]. Weight sieht die Hauptursache in der Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen [53, 72].

Der histologische Befund hingegen läßt in erster Linie auf eine ischämische Schädigung der proximalen Tubuluszellen schließen. Dieser Befund erklärt auch zum Teil die Polyurie und die fehlende Konzentrationsfähigkeit der Nieren.

## 4.2 Weitere Funktionsparameter in der Kontrollphase

In gewissen Grenzen ist die mit Hilfe von Kreatinin bestimmte Clearance proportional zur Inulinclearance und somit zur glomerulären Filtrationsrate (GFR) [18]. Ihr Standardwert liegt beim Schwein bei durchschnittlich  $90 \text{ ml/min/m}^2$ , was umgerechnet bei einem Wert für die Körperoberfläche von  $2,13 \text{ m}^2$  für ein  $100 \text{ kg}$  schweres Schwein bei unseren Tieren einem Wert von  $190 \text{ ml/min}$ , das heißt pro Niere  $95 \text{ ml/min}$  entspricht [73]. Bei unserem durchschnittlichen Nierengewicht von  $220\text{g}$  wären dies auf  $100\text{g NG}$  umgerechnet ca.  $43,2 \text{ ml/min/100gNG}$ .

Bei uns liegt der Median der errechneten Kreatininclearances mit  $12,1 \text{ ml/min/100gNG}$  somit bei ungefähr einem Viertel der Norm.

In einem anderen Perfusionsmodell isolierter Schweinenieren mit Ischämie [11], in dem aber der Clearancewert nicht auf das Nierengewicht normiert wird, liegt die Inulinclearance ebenfalls unter dem Normwert, nämlich bei ca. 50%.

Die Nierengewichtsnormierung stellt hier in jedem Fall ein Problem dar, da man recht willkürlich von einem Durchschnittsgewicht für Schweinenieren ausgehen muß, um die Studien miteinander vergleichen zu können.

Die glomeruläre Filtrationsfraktion ist der prozentuale Anteil des die Niere passierenden Plasmas, der letztendlich auch filtriert wird, also ein Maß für den Anteil der rekrutierten funktionierenden Glomerula an allen Glomerula bei der Filtration des Blutes.

In unserer Vorinterventionsphase ist die Filtrationsfraktion mit 11% im Vergleich zur Norm bei Schweinen (24%) ebenfalls sehr niedrig.

Bei Breimer [11] ist sie zu einem vergleichbaren Perfusionszeitpunkt mit 44% durchschnittlich höher. Er erklärt dies mit den im Laufe der Perfusion zunehmenden Angiotensin II - Konzentrationen und dem im Vergleich zu normalen Bedingungen niedrigeren Perfusionsplasmafluß.

Die Natriumrückresorption, ein vor allem die tubuläre Funktion kennzeichnender Parameter, der abhängig von der Menge an Natriumionen im Ultrafiltrat ist, steigt ohne die Applikation von Pharmaka und nach einer Stunde Perfusion tendentiell leicht an. Das kann durch eine zunehmende Rekrutierung von Tubuli in diesem Zeitabschnitt bedingt sein. Die gegenläufige Reaktion unter NA und NN spiegelt sich auch im histologischen Bild wider: Der Schaden am proximalen Tubulus ist nach Applikation dieser beiden Pharmaka weitaus deutlicher ausgeprägt als nativ.

Der renale Sauerstoffverbrauch ist ein gutes Maß für die in der Niere ablaufenden aktiven Ionentransportmechanismen: Deetjen postuliert den proportionalen Zusammenhang von Natriumtransport und Sauerstoffverbrauch in der Niere [74]. Brezis präzisiert diese Aussage und geht von einer starken Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauches vom Natriumtransport vor allem in den medullären Anteilen der Niere und hier vor allem in den dicken aufsteigenden Schenkeln der Henleschen Schleife aus [15]. Aus dem gleichen Grund vermindern auch Schleifendiuretika, die den Transportmechanismus hemmen, die Anfälligkeit für Ischämie [42].

Tendentiell sinkt der Sauerstoffverbrauch bei unseren Nieren im Laufe des Versuches, und dies unabhängig von der Stellgröße, ob Pharmaka appliziert wurden oder nicht. Eine Erklärung dafür wäre, daß die Niere im Zeitverlauf der Perfusion zunehmend ökonomischer arbeitet. Dagegen spricht allerdings die gegenläufige Entwicklung des Natriumtransportes im Perfusionsverlauf, welche aber wiederum durch die relativ hohe Streubreite der Werte in der Referenzphase nur eingeschränkt aussagekräftig ist.

Eine zweite Möglichkeit wäre, daß während der Perfusion weitere ischämisch vorgeschädigte Tubuluszellen durch den Reperfusionsschaden apoptotisch untergehen und daß so der Sauerstoffverbrauch absinkt. Dies wiederum wäre im Einklang mit der gegenläufigen Entwicklung der Natriumrückresorption zu betrachten.



### 4.3 Interventionsphase

Sowohl NN als auch NA zeigen in unserem Modell bei im klinischen Gebrauch erprobten Dosierungen die ihnen normalerweise zugeschriebenen pharmakodynamischen Primärwirkungen.

Diese Wirkungen, nämlich im Falle von NN Vasodilatation (u.a.[29]) und im Falle von NA Vasokonstriktion (u.a.[75]) sind am besten am jeweiligen Verlauf des renalen vaskulären Widerstandes ablesbar, der sich aus den funktionellen Einzelwiderständen aller folgender Anteile des renalen Gefäßbettes ergibt:

1. Arteria renalis (Nierenarterienhauptstamm)
2. Arteriae interlobares
3. Anastomosen (Arteriae arcuatae) und daraus hervorgehende Arteriae interlobulares im Cortex
4. afferente, präglomeruläre Arteriolen
5. glomeruläre Kapillargefäßknäuel
6. efferente, postglomeruläre Arteriolen
7. peritubuläre Kapillaren/Vasa recta
8. Nierenvene(n)

Anmerkung: 4 und 6: juxtaglomerulärer Apparat

Hauptwiderstandsgefäße sind die prä- und postkapillären Arteriolen [18]. Querschnittsveränderungen an diesen Gefäßen haben also die deutlichsten Auswirkungen auf den renalen Gesamtwiderstand. Es ist denkbar, daß aufgrund unterschiedlicher Rezeptorendichten oder unterschiedlicher Vulnerabilität durch Ischämie der Widerstand dieser Einzelkomponenten des Gefäßbettes selektiv durch die unterschiedlichsten Einflußgrößen verändert werden kann und wird.

Der Flußwiderstand im Nierenmark und an der Papille ist im Normalfall höher als der im Cortex, der regionale Perfusionsplasmafluß unter entsprechend normalen Verhältnissen dementsprechend im Cortex größer [18]. Außerdem wird davon ausgegangen, daß die Perfusion im Nierenmark konstant ist und daß bei Notwendigkeit der vermehrten Ausscheidung von Wasser zusätzlich in variablem Maße cortexständige Nephronen zur Perfusion rekrutiert werden [42]. Durch unterschiedliche Verteilungsmuster von Rezeptoren für bestimmte Substanzen, die unter anderem den tubuloglomerulären Feedbackmechanismus vermitteln, kann so eine über regionale Umverteilung der Nierendurchblutung regulierte Filtrationsleistung erklärt werden.

Histologisch zeigen alle Nieren das Bild einer mäßigen bis starken ischämisch und reperfusionsbedingten Schädigung der proximalen Tubuli. Ischämie bewirkt bei isoliert reperfundierten Nieren Apoptose [76, 77] und zwar vor allem am proximalen Tubulus [46]. Betrachtet man die Unterschiede zwischen den Gruppen, so ist der auffälligste Befund, daß in der NN-Gruppe eine deutliche Verstärkung des Ischämie-Reperfusionsschadens im Vergleich vor allem zur Referenzgruppe stattfindet. In der Literatur wird dieses Phänomen kontrovers diskutiert. Bei Linas ist in Abwesenheit von neutrophilen Granulozyten derselbe Effekt beschrieben [40], häufiger jedoch wird ein protektiver, auch die Apoptose abschwächender Effekt von NN auf die Niere nach Ischämie postuliert [78].

#### 4.3.1 Noradrenalin

NA bewirkt im allgemeinen laut Literatur eine Vasokonstriktion [38, 75]. Der bei den untersuchten Nieren auftretende starke und signifikante Anstieg des Gesamtwiderstandes spricht dafür, daß NA auch in unserem Modell seine primäre hämodynamische Wirkung entfaltet.

Durch Verengung des Gesamtgefäßbettes nimmt der Perfusionsblut- und damit -plasmafluß deutlich ab. NA wird unter anderem in mehreren Modellen zur Induktion eines durch Vasokonstriktion ausgelösten akuten Nierenversagens eingesetzt [20, 32, 79]. Ausgehend von den Nierenfunktionsparametern kann nun versucht werden, eine genauere Lokalisation des Wirkorts in unserem Modell vorzunehmen.

Einen Defekt in der Harnkonzentrierung vorausgesetzt, der im Zusammenhang mit Denervierung und „ADH-Mangel“ bereits diskutiert wurde, wird der Zusammenhang zwischen den Parametern Filtrationsdruck und Harnzeitvolumen in unserem Modell nahezu proportional. Die Steigerung des Harnzeitvolumens unter NA legt so eine konstriktive Wirkung des Agens bevorzugt an den postglomerulären Widerstandsgefäßen nahe. In der Folge steigt der Filtrationsdruck im Glomerulum an.

Die unter NA abnehmende Kreatininclearance als nahezu rein glomerulärer Funktionsparameter resultiert wahrscheinlich aus der verminderten Nettodurchblutung des Nierenparenchyms, die das totale Angebot an Perfusat an die Gesamtfiltrationsfläche pro Zeiteinheit reduziert und somit eine geringere Filtrationsleistung der gesamten Niere zur Folge hat.

Die Filtrationsfraktion ändert sich unter Noradrenalin nicht. Der Plasmafluß sinkt und so steht das Perfusat länger mit der filtrierenden Oberfläche in Kontakt als unter NN

oder in der Referenzgruppe. Im Rahmen der regionalen Umverteilung des renalen Blutflusses unter verschiedenen hämodynamischen Konditionen gibt es dazu bereits einige Erkenntnisse:

Taugner [80] postuliert ebenfalls eine präglomerulär geringer als postglomerulär ausgeprägte myovaskuläre Reagibilität. Dies ist auf das geringere Vorhandensein von Myofilamenten in den reninproduzierenden Zellen, die laut Taugner präglomerulär die glatten Gefäßmuskelzellen ersetzen, zurückzuführen.

Bei Casellas [81] sowie Ito [82] jedoch wird eine lokalisierte Vasokonstriktion der afferenten Arteriole beschrieben. Die Experimente von Casellas sind allerdings an isolierten Arteriolenpräparationen durchgeführt worden. Er geht zudem von einem kalziummodulierten Konstriktionsmechanismus bei den afferenten Arteriolen aus. Efferente Arteriolen haben hingegen keine spannungsabhängigen Kalziumkanäle [83, 84].

Wenn also die ohnehin schon geringe Kontraktilität und Reaktivität der präglomerulären Sphinkteren durch das in unserem Modell vorhandene Verapamil aufgehoben ist, so ist ihre schwächere Konstriktion nach NA-Applikation im Vergleich zum postglomerulären Apparat die logische Schlußfolgerung.

In einem Perfusionsmodell von Malis wird an einer Gruppe von Nieren ein akutes Nierenversagen durch NA induziert. Es wird bei Vorbehandlung der Nieren durch Verapamil ebenfalls eine die vasokonstriktive Wirkung des NA abschwächende Wirkung von Verapamil beschrieben. In diesem Fall beeinträchtigt die Verwendung von Verapamil die Aussagekraft vor allem der Experimente unter NA. Es erscheint also möglich, daß der Perfusionsdruck bei den hier untersuchten Nieren ohne die Verwendung von Verapamil merklich höher ausgefallen wäre. Ebenfalls hätte der Ischämie-Reperfusionsschaden in dieser Gruppe gravierender ausfallen können. Dieser ist bei unseren Nieren bei weitem nicht so stark ausgeprägt wie jener in der NN-Gruppe, wenngleich deutlicher als in der Referenzgruppe, jedoch ebenfalls ohne statistische Signifikanz.

#### 4.3.2 Nitroprussid-Natrium

Die Bildung des toxischen Metaboliten Zyanid, die unter anderem in einer Arbeit von Michenfelder [85] beschrieben wurde, konnte in einer arteriell während der NN-Dauerinfusion entnommenen Blutprobe, untersucht vom Landesinstitut für Gerichtsmedizin Berlin, ausgeschlossen werden. Zyanid war in der Probe nicht nachweisbar. Außerdem überschritt durch kontinuierliche Gabe in unserer

Versuchsanordnung die Dosis nicht die von Michenfelder angegebene Toxizitätsgrenze [85]. Kunathai geht gar von einer als gering einzuschätzenden Gefährdung durch eine Zyanidintoxikation bei der Applikation von NN aus [86].

Im allgemeinen hat NN mittels Freisetzung von Stickstoffmonoxidmolekülen eine Vasodilatation zur Folge [22]. Der sich unter Applikation von NN in unserem Modell verringernde Gesamtwiderstand spricht für seine pharmakodynamisch regelrechte Primärwirkung. In der Literatur findet sich eine Arbeit mit Experimenten an isolierten Hundenieren, in der diese auf NN ebenfalls mit einer Widerstandssenkung reagieren, die allerdings nicht besonders hoch ausfällt [12]. Der renale Blutfluß erhöht sich bei diesen Nieren um 10 %. Auch bei uns steigt folgerichtig der Perfusionsplasmafluß an, und zwar aufgrund der zur Aufrechterhaltung des postulierten Perfusionsdruckes von uns manuell hochregulierten Pumpenleistung während der Perfusion.

Die Kreatininclearance nimmt unter NN viel deutlicher ab als unter NA und in der Referenzgruppe. Dieser Befund legt nahe, daß die hämodynamisch bedeutsamste Wirkung in einer Dilatation der postglomerulären Widerstandsgefäße liegt. Unter NN ist das Harnzeitvolumen im Vergleich zur Kontrollphase vermindert. Wieder die Proportionalität von Harnzeitvolumen und Filtrationsdruck vorausgesetzt, unterstützt dies die These, daß die den Filtrationsdruck und somit das Harnzeitvolumen vermindernde Wirkung von NN durch bevorzugte postglomeruläre Gefäßdilatation zustandekommt. Auch die starke Abnahme der Filtrationsfraktion unter NN kann mit diesen Überlegungen einvernehmlich diskutiert werden.

Imig geht davon aus, daß NO als Transmitter einen modulatorischen Einfluß auf den Tonus präglomerulärer Widerstandsgefäße hat [87]. Diese Feststellung steht aber nicht im Widerspruch zu den von uns beobachteten Phänomenen.

Bei der Betrachtung der tubulären Parameter stehen Natriumtransport und Sauerstoffverbrauch im Vordergrund. Das stärkere Absinken des Natriumtransportes unter NN als unter NA läßt darauf schließen, daß das Angebot an Ultrafiltrat an den proximalen Tubulus aufgrund des geringeren Filtrationsdruckes unter NN geringer als jenes unter NA ist. Ortiz beobachtet bei isolierten Präparationen von dicken aufsteigenden Schenkeln der Henle-Schleife bei Ratten dasselbe Phänomen. Als Grund führt er jedoch eine direkte Wirkung an: NO verhindert die Rückresorption von Natrium und Chlorid und zwar durch Stimulation der Phosphodiesterase II [88].

Der Grund für den tendentiellen Anstieg des Natriumtransports in der Referenzgruppe im Laufe der Perfusion und die Abnahme bei den Nieren, bei denen

Pharmaka appliziert wurden, könnte eine direkte Wirkung der Pharmaka an den Zellen des proximalen Tubulus und/oder im dicken aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife sein. Dann wäre eine Einschränkung der Funktion der Na/K-ATPase durch beide Pharmaka der naheliegendste Pathomechanismus.

Bei Seghaye wird die vermindernde Wirkung von NN auf die Komplementaktivierung erwogen [89], was so viel wie einen protektiven Effekt bedeuten würde. Bei den hier untersuchten Nieren sinken aber Kreatininclearance, Filtrationsfraktion, Natriumtransport und Sauerstoffverbrauch unter der Gabe von NN, was diesen ohnehin nur hypothetischen Effekt mehr als kompensiert.

#### 4.4 Shunts

Ergänzend kann die Existenz von intrarenalen Shuntgefäßen, ausgestattet mit einem den Querschnitt des Strombettes regulierenden muskulären Apparat bzw. anderen auf Pharmaka reagierenden Vorrichtungen, diskutiert werden.

Ob solche paraglomerulären Blutflußwege aus zusätzlichen Gefäßen bestehen, die das Glomerulum einfach umgehen oder eine anatomische Besonderheit des juxtaglomerulären Apparates darstellen, sei dahingestellt. Die Existenz von intrarenalen Shuntgefäßen in reperfundierten Nieren wird in der Literatur bisher nicht unter funktionellen Gesichtspunkten diskutiert, sondern nur deskriptiv mit Hilfe bildgebender Verfahren beleuchtet [27, 90].

SilikongummiAusgußpräparate sollen bei Casellas die Existenz verschiedener Arten von nichtglomerulären Blutflußwegen bei Ratten beweisen. Im oberflächlichen Cortex verzweigen sich in seiner Studie Interlobulärarterien in nichtglomeruläre Abschnitte, die sogenannten Ludwig-Arteriolen [91]. Im juxtamedullären Cortex treten diese Abschnitte vergleichsweise häufiger auf und umfassen Vasa Recta Vera, Glomeruli, bei denen afferentes und efferentes Widerstandsgefäß ein durchgängiges Gefäß bilden und Glomeruli mit zwei efferenten Gefäßen, von denen eines das glomeruläre Gefäßknäuel umgeht [92]. Casellas behauptet, daß diese alternativen Gefäßwege unter normalen Verhältnissen ungenutzt bleiben [90].

Pathi stellt fest, daß in seinen Ausgußpräparaten nach hypothermer Perfusion bei gleichmäßiger Perfusion der oberflächlichen und tiefen Cortexschichten die Glomeruli aufgrund von kapillärer Verschmälerung geschrumpft sind und alternative Kanäle geöffnet. Bei Wiederherstellung der Normothermie wird der oberflächliche Cortex minderperfundiert, was für den potentiellen Ischämieschaden aufgrund gesteigerter metabolischer Bedürfnisse während der Wiedererwärmung

wegbereitend ist. Ischämieschaden und Rekrutierung alternativer Blutflußwege gehen also Hand in Hand [27].

Die unter NN erfolgende starke und signifikante Senkung der Filtrationsfraktion läßt den Schluß zu, daß NN im Falle einer Existenz von Shunts diesen Weg der alternativen afunktionalen Perfusion öffnet und die GFR durch relativ verminderten glomerulären Blutfluß senkt. Auch der erhöhte Perfusionsplasmafluß könnte so erklärt werden. Das Blut würde in verringertem Maße die Widerstandsgefäße des glomerulären Apparates mit prä- und postglomerulären Sphinkteren passieren. In diesem Falle wäre die pharmakologische Wirkung auf den eigentlichen glomerulären Widerstandsapparat als gleichgerichtet und als verstärkend zu betrachten.

Die Existenz von Shuntgefäßen vorausgesetzt, wäre an den Ergebnissen jedoch keine kongruente pharmakologische Wirkung von NA abzulesen. Die Filtrationsfraktion bleibt unter der Applikation von NA nahezu unverändert zum Ausgangswert und steigt nicht an, wie dies zu erwarten wäre, sollte NA vorhandene, vor der Applikation geöffnete alternative Perfusionspfade durch seine vasokonstriktive Eigenschaft verschließen. Aber unter der Voraussetzung, daß das Gefäßsystem durch die Konditionen der Ischämie, Konservierung und Perfusion schon maximal vorkonstringiert ist, stellt diese Tatsache keinen Widerspruch dar.

#### 4.5 Schlußfolgerung

Die perfundierten Nieren repräsentieren ein Modell im Zustand des akuten Nierenversagens in der polyurischen Phase.

An diesem pathophysiologischen Modell ist mit gut reproduzierbaren validen Ergebnissen pharmakologische Forschung durchführbar. Diese Aussage wird in erster Linie durch die erhaltene Reagibilität auf Gabe von Pharmaka gestützt. Die genaue Kenntnis um den Zustand des Modells ermöglicht eine realistische Einordnung in den Literaturkontext und so eine gute Beurteilung des Stellenwertes der Ergebnisse.

## Literaturverzeichnis

- [1] (1999): Tierschutzbericht der Bundesregierung, Bonn, BMELF
- [2] Hierholzer, K. (1982): Value and necessity of animal research in nephrology, *Expl Biol Med* 7, Seite 88-101.
- [3] Russell, W und Burch, R (1959): *The Principles of Humane Experimental Technique*, Methuen, London.
- [4] (1986): Richtlinie 86/609/EWG des Rates vom 24. November 1986 zur Annäherung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, ABl. EG Nr. L 358, Europäische Kommission, 1
- [5] Schurek, H. J. (1980): Application of the isolated perfused rat kidney in nephrology, *Contrib Nephrol* 19, Seite 176-90.
- [6] Haab, F.; Julia, P.; Nochy, D. und Cambillau, M. (1996): Improvement of postischemic renal function by limitation of initial reperfusion pressure, *J Urol* 155, Seite 1089-1093.
- [7] Wilson, SK; Steinsland, OS und Nelson, SH (1994): Isolated, perfused rabbit ear artery: a model for studying segmental vasoconstriction and dilatation., *J Cardiovasc Pharmacol* 23 [1], Seite 127-35.
- [8] Brezis, M.; Shina, A.; Kidroni, G.; Epstein, F. H. und Rosen, S. (1988): Calcium and hypoxic injury in the renal medulla of the perfused rat kidney, *Kidney Int* 34 [2], Seite 186-94.
- [9] Gabbai, F. B.; Peterson, O. W.; Khang, S.; Wilson, C. B. und Blantz, R. C. (1994): Glomerular hemodynamics in cell-free and erythrocyte-perfused isolated rat kidney, *Am J Physiol* 267 [3 Pt 2], Seite F423-7.
- [10] Baeyer, H.v.; Stahl, K.; Häussler, M.; Meissner, M. und Unger, V. (1997): Eine neue Methode zur ex-vivo-Vollblut-Perfusion isolierter Warmblüterorgane, dargestellt an der Niere von Schweinen, *Biomedizinische Technik* 42, Seite 61-68.
- [11] Breimer, M. E.; Svalander, C. T.; Haraldsson, B. und Bjorck, S. (1996): Physiological and histological characterisation of a pig kidney in vitro perfusion model for xenotransplantation studies, *Scand J Urol Nephrol* 30 [3], Seite 213-21.
- [12] Bastron, R. D. und Kaloyanides, G. J. (1972): Effect of sodium nitroprusside on function in the isolated and intact dog kidney, *J Pharmacol Exp Ther* 181 [2], Seite 244-9.
- [13] Henry, M. L.; Bendle, M. D. und Ferguson, R. M. (1994): Leukocyte inhibition and ex vivo whole blood xenoperfusion, *Transplant Proc* 26 [3], Seite 1311.
- [14] Abouna, G. M.; Delong, T. G.; Pashley, D. H.; Sobel, R. E.; Ginsburg, J. M. und Woodruff, M. (1974): Proceedings: Critical evaluation of viability assays in renal preservation, *Br J Surg* 61 [4], Seite 325.
- [15] Brezis, M; Rosen, S; Silva, P und Epstein, FH (1984): Selective vulnerability of the medullary thick ascending limb to anoxia in the isolated perfused rat kidney., *J Clin Invest* 73 [1], Seite 182-90.
- [16] Dittrich, S.; Schuth, A.; von Baeyer, H.; Grosse-Siestrup, C.; Lange, P. E. und Kaczmarczyk, G. (1998): Effect of blood viscosity on the function of isolated perfused porcine kidney after cold preservation, *Zentralbl Chir* 123 [7], Seite 809-13.
- [17] Puskas, J. D.; Oka, T.; Mayer, E.; Wisser, W.; Downey, G. P.; Slutsky, A. S. und Patterson, G. A. (1994): Hemodilution reduces early reperfusion injury in

- an ex vivo rabbit lung preservation model, *Ann Thorac Surg* 57 [3], Seite 731-5.
- [18] Hierholzer, K und Fromm, M (1995): Funktionen der Nieren, *Physiologie des Menschen*, 26. Auflage, Seite 737-776, Springer, Berlin.
  - [19] Shapiro, J. I.; Cheung, C.; Itabashi, A.; Chan, L. und Schrier, R. W. (1985): The effect of verapamil on renal function after warm and cold ischemia in the isolated perfused rat kidney, *Transplantation* 40 [6], Seite 596-600.
  - [20] Malis, C. D.; Cheung, J. Y.; Leaf, A. und Bonventre, J. V. (1983): Effects of verapamil in models of ischemic acute renal failure in the rat, *Am J Physiol* 245 [6], Seite F735-42.
  - [21] Loutzenhiser, R. D. und Epstein, M. (1987): Renal hemodynamic effects of calcium antagonists, *Am J Med* 82 [3b], Seite 23-8.
  - [22] Radermacher, J.; Forstermann, U. und Frolich, J. C. (1990): Endothelium-derived relaxing factor influences renal vascular resistance, *Am J Physiol* 259 [1 Pt 2], Seite F9-17.
  - [23] Raafat, AM; Murray, MT; McGuire, T; De, Frain M; Franko, AP; Zafar, RS; Palmer, K; Diebel, L und Dulchavsky, SA (1997): Calcium blockade reduces renal apoptosis during ischemia reperfusion., *Shock* 8 [3], Seite 186-92.
  - [24] Toronyi, E; Hamar, J; Perner, F und Szende, B (1999): Prevention of apoptosis reperfusion renal injury by calcium channel blockers., *Exp Toxicol Pathol* 51 [3], Seite 209-12.
  - [25] Collins, GM; Hartley, LC und Clunie, GJ (1971): Kidney preservation for transportation. 5. Comparison of perfusates for hypothermic storage., *Med J Aust* 1 [22], Seite 1171-2.
  - [26] Hauet, T.; Mothes, D.; Goujon, J.; Germonville, T.; Caritez, J. C.; Carretier, M.; Eugene, M. und Tillement, J. (1998): Trimetazidine reverses deleterious effects of ischemia-reperfusion in the isolated perfused pig kidney model, *Nephron* 80 [3], Seite 296-304.
  - [27] Pathi, V. L.; Morrison, J.; MacPhaden, A.; Martin, W.; McQuiston, A. M. und Wheatley, D. J. (1998): Alterations in renal microcirculation during cardiopulmonary bypass, *Ann Thorac Surg* 65 [4], Seite 993-8.
  - [28] Grossman, E.; Ironi, A. N. und Messerli, F. H. (1998): Comparative tolerability profile of hypertensive crisis treatments, *Drug Saf* 19 [2], Seite 99-122.
  - [29] Robinson, BF; Collier, JG und Dobbs, RJ (1979): Comparative dilator effect of verapamil and sodium nitroprusside in forearm arterial bed and dorsal hand veins in man: functional differences between vascular smooth muscle in arterioles and veins., *Cardiovasc Res* 13 [1], Seite 16-21.
  - [30] Lu, M.; Giebisch, G. und Wang, W. (1997): Nitric oxide-induced hyperpolarization stimulates low-conductance Na<sup>+</sup> channel of rat CCD, *Am J Physiol* 272 [4 Pt 2], Seite F498-504.
  - [31] Leighton, K. M.; Bruce, C. und MacLeod, B. A. (1977): Sodium nitroprusside-induced hypotension and renal blood flow, *Can Anaesth Soc J* 24 [6], Seite 637-40.
  - [32] Conger, J. D.; Schultz, M. F.; Miller, F. und Robinette, J. B. (1994): Responses to hemorrhagic arterial pressure reduction in different ischemic renal failure models, *Kidney Int* 46 [2], Seite 318-23.
  - [33] Nihei, H; Higuchi, C und Sanaka, T (1991): Experimental models of acute renal failure, *Nippon Rinsho* 49 [6], Seite 1239-43.
  - [34] Kaufmann, MA; Pargger, H; Castelli, I; Steiner, LA und Drop, LJ (1996): Renal vascular responses to high and low ionized calcium: influence of



- norepinephrine in the isolated perfused rat kidney., J Trauma 40 [1], Seite 110-5.
- [35] Epstein, M und Loutzenhiser, RD (1992): Calcium antagonists and the kidney., Tohoku J Exp Med 166 [1], Seite 123-34.
  - [36] Koch, T; Heller, S; van, Ackern K; Schiefer, HG und Neuhoof, H (1996): Impairment of bacterial clearance induced by norepinephrine infusion in rabbits., Intensive Care Med 22 [7], Seite 637-43.
  - [37] Jancaewska, H und Herbacynska-Cedro, K (1977): Effect of indomethacin on the responses of resistance and capacitance vessels to noradrenaline in working skeletal muscles in the dog (1) (2). Arch Int Pharmacodyn Ther 227 [1], Seite 49-56.
  - [38] Grega, GJ und Adamski, SW (1987): Patterns of constriction produced by vasoactive agents., Fed Proc 46 [2], Seite 270-5.
  - [39] Lieberthal, W.; Wolf, E. F.; Rennke, H. G.; Valeri, C. R. und Levinsky, N. G. (1989): Renal ischemia and reperfusion impair endothelium-dependent vascular relaxation, Am J Physiol 256 [5 Pt 2], Seite F894-900.
  - [40] Linas, S.; Whittenburg, D. und Repine, J. E. (1997): Nitric oxide prevents neutrophil-mediated acute renal failure, Am J Physiol 272 [1 Pt 2], Seite F48-54.
  - [41] Romeis, B. und Böck, P. (1989): Mikroskopische Technik, 17. nachbearbeitete Auflage. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München.
  - [42] Heyman, S. N.; Rosen, S. und Brezis, M. (1997): The renal medulla: life at the edge of anoxia, Blood Purif 15 [4-6], Seite 232-42.
  - [43] Kleinknecht, C und Laouari, D (1983): Nutritional factors in the development of experimental renal failure, Sem Hop 59 [19], Seite 1449-51.
  - [44] Wendt, M; Bickhardt, K; Herzog, A; Fischer, A; Martens, H und Richter, T (2000): Porcine stress syndrome and PSE meat: clinical symptoms, pathogenesis, etiology and animal rights aspects, Berl Munch Tierarztl Wochenschr 113 [5], Seite 173-90.
  - [45] Bonventre, J. V. und Weinberg, J. M. (1992): Kidney preservation ex vivo for transplantation, Annu Rev Med 43, Seite 523-53.
  - [46] Lieberthal, W; Rennke, HG; Sandock, KM; Valeri, CR und Levinsky, NG (1988): Ischemia in the isolated erythrocyte-perfused rat kidney. Protective effect of hypothermia., Ren Physiol Biochem 11 [1-2], Seite 60-9.
  - [47] Martin, X.; Da Silva, M.; Virieux, R. S.; Daher, I.; Hadj-Aissa, A.; Buffet, R.; Tiollier, J.; Zheng, S.; Guttman, R. und Dubernard, J. M. (1997): Autotransplantation of the kidney in primates: a model of renal damage to study the ischemia-reperfusion injury, Transplant Proc 29 [8], Seite 3428-9.
  - [48] Hauet, T.; Mothes, D.; Goujon, J. M.; Caritez, J. C.; Carretier, M. und Eugene, M. (1997): Evaluation of injury preservation in pig kidney cold storage by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of urine, J Urol 157 [3], Seite 1155-60.
  - [49] Maessen, J. G.; van der Vusse, G. J.; Vork, M. und Kootstra, G. (1989): The beneficial effect of intermediate normothermic perfusion during cold storage of ischemically injured kidneys. A study of renal nucleotide homeostasis during hypothermia in the dog, Transplantation 47 [3], Seite 409-14.
  - [50] Abdullah, NA; Assem, ES und Damerau, B (1988): Anaphylatoxin-induced release of histamine from in vitro perfused guinea pig kidney., Agents Actions 23 [3-4], Seite 181-4.

- [51] Healing, G.; Gower, J.; Fuller, B. und Green, C. (1990): Intracellular iron redistribution. An important determinant of reperfusion damage to rabbit kidneys, *Biochem Pharmacol* 39 [7], Seite 1239-45.
- [52] Hughes, JD; Chen, C; Mattar, SG; Someren, A; Noe, B; Suwyn, CR und Lumsden, AB (1996): Normothermic renal artery perfusion: a comparison of perfusates., *Ann Vasc Surg* 10 [2], Seite 123-30.
- [53] Weight, S. C.; Bell, P. R. und Nicholson, M. L. (1996): Renal ischaemia--reperfusion injury, *Br J Surg* 83 [2], Seite 162-70.
- [54] Paller, M. S. (1992): Free radical-mediated postischemic injury in renal transplantation, *Ren Fail* 14 [3], Seite 257-60.
- [55] Yu, L.; Gengaro, P. E.; Niederberger, M.; Burke, T. J. und Schrier, R. W. (1994): Nitric oxide: a mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury, *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 [5], Seite 1691-5.
- [56] Peer, G.; Blum, M. und Iaina, A. (1996): Nitric oxide and acute renal failure [editorial] [see comments], *Nephron* 73 [3], Seite 375-81.
- [57] Gurbanov, K; Winaver, J; Haramati, A und Hoffman, A (1995): Renal effects of big endothelin-1 in experimental congestive heart failure., *J Cardiovasc Pharmacol* 26 Suppl 3, Seite S473-5.
- [58] Cossins, AR und Kilbey, RV (1990): The temperature dependence of the adrenergic Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger of trout erythrocytes., *J Exp Biol* 148, Seite 303-12.
- [59] Persson, PB (1997): Physiological regulation of renal blood flow and glomerular filtration rate by the endothelium and smooth muscle., *Blood Purif* 15 [4-6], Seite 219-27.
- [60] Navar, LG (1978): Renal autoregulation: perspectives from whole kidney and single nephron studies., *Am J Physiol* 234 [5], Seite F357-70.
- [61] Bello-Reuss, E; Pastoriza-Munoz, E und Colindres, RE (1977): Acute unilateral renal denervation in rats with extracellular volume expansion., *Am J Physiol* 232 [1], Seite F26-32.
- [62] Adams, PL; Adams, FF; Bell, PD und Navar, LG (1980): Impaired renal blood flow autoregulation in ischemic acute renal failure., *Kidney Int* 18 [1], Seite 68-76.
- [63] Kelleher, S. P.; Robinette, J. B. und Conger, J. D. (1984): Sympathetic nervous system in the loss of autoregulation in acute renal failure, *Am J Physiol* 246 [4 Pt 2], Seite F379-86.
- [64] Williams, RH; Thomas, CE; Navar, LG und Evan, AP (1981): Hemodynamic and single nephron function during the maintenance phase of ischemic acute renal failure in the dog., *Kidney Int* 19 [4], Seite 503-15.
- [65] Cohen, AJ und Fray, JC (1982): Calcium ion dependence of myogenic renal plasma flow autoregulation: evidence from the isolated perfused rat kidney., *J Physiol (Lond)* 330, Seite 449-60.
- [66] Ochwaldt, B. (1961): Relation to renal blood supply to diuresis, *Prog Cardiovasc Dis* 3, Seite 501.
- [67] Bayliss, WM (1902): On the local reaction of the arterial wall to changes of internal pressure, *J Physiol* 28:220-31.
- [68] Casellas, D und Moore, LC (1990): Autoregulation and tubuloglomerular feedback in juxtamedullary glomerular arterioles., *Am J Physiol* 258 [3 Pt 2], Seite F660-9.
- [69] Johnson, PC (1986): Autoregulation of blood flow., *Circ Res* 59 [5], Seite 483-95.

- [70] Herold, G (1997): Innere Medizin : eine vorlesungsorientierte Darstellung; unter Berücksichtigung des Gegenstandskatalogs für die ärztliche Prüfung, Herold, Köln.
- [71] Kirklin, J. K. und McGiffin, D. C. (1987): Early complications following cardiac surgery, *Cardiovasc Clin* 17 [3], Seite 321-43.
- [72] Homer-Vanniasinkam, S.; Crinnion, J. N. und Gough, M. J. (1997): Post-ischaemic organ dysfunction: a review, *Eur J Vasc Endovasc Surg* 14 [3], Seite 195-203.
- [73] Kolb, E (1967): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, Fischer, Jena.
- [74] Deetjen, P. und Kramer, K. (1961): Die Abhängigkeit des O<sub>2</sub>-Verbrauches der Niere von der Na-Rückresorption, *Pflügers Archiv* 273, Seite 636-650.
- [75] Kelly, RJ und Burks, TF (1974): Relative vasoconstrictor potencies of norepinephrine, alpha-methylnorepinephrine and octopamine., *Arch Int Pharmacodyn Ther* 208 [2], Seite 306-16.
- [76] Nogae, S; Miyazaki, M; Kobayashi, N; Saito, T; Abe, K; Saito, H; Nakane, PK; Nakanishi, Y und Koji, T (1998): Induction of apoptosis in ischemia-reperfusion model of mouse kidney: possible involvement of Fas., *J Am Soc Nephrol* 9 [4], Seite 620-31.
- [77] Daemen, MA; de, Vries B; van't, Veer C; Wolfs, TG und Buurman, WA (2001): Apoptosis and chemokine induction after renal ischemia-reperfusion., *Transplantation* 71 [7], Seite 1007-11.
- [78] Martinez-Mier, G; Toledo-Pereyra, LH; Bussell, S; Gauvin, J; Vercruysse, G; Arab, A; Harkema, JR; Jordan, JA und Ward, PA (2000): Nitric oxide diminishes apoptosis and p53 gene expression after renal ischemia and reperfusion injury., *Transplantation* 70 [10], Seite 1431-7.
- [79] Kelleher, S. P.; Robinette, J. B.; Miller, F. und Conger, J. D. (1987): Effect of hemorrhagic reduction in blood pressure on recovery from acute renal failure, *Kidney Int* 31 [3], Seite 725-30.
- [80] Taugner, R und Hackenthal, E (1989): The Juxtaglomerular Apparatus, Springer, Berlin.
- [81] Casellas, D und Moore, LC (1993): Autoregulation of intravascular pressure in preglomerular juxtamedullary vessels., *Am J Physiol* 264 [2 Pt 2], Seite F315-21.
- [82] Ito, S und Ren, Y (1993): Evidence for the role of nitric oxide in macula densa control of glomerular hemodynamics., *J Clin Invest* 92 [2], Seite 1093-8.
- [83] Navar, LG; Inscho, EW; Majid, SA; Imig, JD; Harrison-Bernard, LM und Mitchell, KD (1996): Paracrine regulation of the renal microcirculation., *Physiol Rev* 76 [2], Seite 425-536.
- [84] Hansen, PB; Jensen, BL; Andreasen, D und Skott, O (2001): Differential expression of T- and L-type voltage-dependent calcium channels in renal resistance vessels., *Circ Res* 89 [7], Seite 630-8.
- [85] Michenfelder, J. D. (1977): Cyanide release from sodium nitroprusside in the dog, *Anesthesiology* 46 [3], Seite 196-201.
- [86] Kunathai, S; Sholler, GF; Celermajer, JM; O'Halloran, M; Cartmill, TB und Nunn, GR (1989): Nitroprusside in children after cardiopulmonary bypass: a study of thiocyanate toxicity., *Pediatr Cardiol* 10 [3], Seite 121-4.
- [87] Imig, JD und Roman, RJ (1992): Nitric oxide modulates vascular tone in preglomerular arterioles., *Hypertension* 19 [6 Pt 2], Seite 770-4.
- [88] Ortiz, PA und Garvin, JL (2001): NO Inhibits NaCl absorption by rat thick ascending limb through activation of cGMP-stimulated phosphodiesterase., *Hypertension* 37 [2 Part 2], Seite 467-71.

- [89] Seghaye, M. C.; Duchateau, J.; Grabitz, R. G.; Wolff, T.; Marcus, C.; Engelhardt, W.; Hornchen, H.; Messmer, B. J. und von Bernuth, G. (1996): Effect of sodium nitroprusside on complement activation induced by cardiopulmonary bypass: a clinical and experimental study, J Thorac Cardiovasc Surg 111 [4], Seite 882-92.
- [90] Casellas, D. und Mimran, A. (1981): Shunting in renal microvasculature of the rat: a scanning electron microscopic study of corrosion casts, Anat Rec 201 [2], Seite 237-48.
- [91] Ludwig, C (1869): Arbeiten aus dem Physiologischen Institut zu Leipzig 113.
- [92] Casellas, D. und Mimran, A. (1979): Aglomerular pathways in intrarenal microvasculature of aged rats, Am J Anat 156 [2], Seite 293-9.

## Anhang: Material und Geräte

Einmalspritzen, steril	B Braun, Melsungen
50-ml Perfusorspritze	Becton Dickinson Drogheda, Irland
Strauss - Kanüle 1,8 mm	B Braun, Melsungen
Kanülen	Terumo, Belgien 20G, 1 ½ ″; 0,9*40 Nr. 1 Luer
Heidelberger Verlängerungen	Codan Übertragungsleitung, steril; 75 cm
Infusionsbestecke	Infusionsgerät R87 plus P; DIN 58 362-IG-P, Luer Lock, Ohmeda GmbH und Co.
Transfusionsgerät für Blutbeutel	Sangofix ES, B Braun, Melsungen, 150 cm, steril, 200 mm Filter, 20 Tropfen = 1g
Nahtmaterial	Vicryl, 4-metric ohne Nadel, 6*75/ 5*70 Ethicon, Norderstedt
3-Wege-Hähne	360° pvb Medizintechnik, Kirchseeon
Leerblutbeutel	Biopack-Compoflex mit Einstichdorn; Biotrans GmbH, Dreieich Art. Nr. P4162
Absaugkatheter	Bronchialis „s“ gerade 60 cm, Steridan Hundested
Heparin Natrium	Liquemin N 25.000, Hoffman-La Roche, Grenzach-Wyhlen
Verapamilhydrochlorid	Isoptin 2 ml Knoll
Noradrenalin	Arterenol; Hoechst 1 ml 1:1000
Nitroprussid-Natrium	Nipruss, Schwarz Pharma
Temperaturmeßsonde	5F Swan-Ganz 0.5cc CAP, 93-132-5F
Druckschlauch	Combidyn 150 cm B Braun, Melsungen
Kapillarwärmeaustauscher	Jostra
Monitor	Hewlett-Packard Model 66S
Druckmodul	1006B T
Waage Blutbeutel	Sartorius, Göttingen
Waage Nieren	Sartorius, Göttingen
Infusionsdruckmanschette	Biotest Pharma, Dreieich
Dialysemodul	(Kapillardialysator) Polysulfone UF 6.4 Hemoflow F7, Fresenius AG, Bad Homburg
Rollerpumpe	Multiflow, Stöckert Instrumente, München Typ 10 00 00 (Dialysat); Typ 10 20 00 (Blut)
BGA-Meßgerät	ABL 5 Radiometer Copenhagen
OSM 3	Radiometer Copenhagen
Mikro-Osmometer Automatic	H. Roebeling Meßtechnik, Berlin Typ 13 /13DR- Autocal
Creatinine-Analyzer 2	Beckman, München mit Creatinine Aqueous Standard 5 mg/dl alkalischer Puffer 180 ml , 45 ml Pikrinsäure

	wirksame Bestandteile: tri-Natriumphosphat-Dodekahydrat 62,6 mmol/l; Pikrinsäure 50,5 mmol/l; Natriumhydroxid 188 mmol/l; Kreatinin 8,84 mmol/l
Probengewinnung	Eppendorf Probenbehälter 1,5 ml Monovette, Sarstedt, Nymbrecht: 5,5 ml Li-Heparin (15 I.E./ml Blut); 2,7 ml EDTA K (1,6 mg EDTA/ml Blut); Kunststoffbehälter für histologische Präparate; Formalinlösung 5%; NaCl – Lösung, 0,9%; Glucoselösung 5,5 g /100 ml
Formalin	Herbeta
Paraffin	Merck
Mikroskop	Leitz DMRB, Leica, Heerbrugg, Schweiz

Tab. 5: Zusammensetzungen von Dialysat und Konservierungslösung nach von Baeyer;  
(#)PEG = Polyethylenglycol

Dialysat		Konservierungslösung	
Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
NaCl	110 mmol/l	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	75 mmol/l
KCl	4 mmol/l	NaCl	10 mmol/l
CaCl <sub>2</sub>	1,5 mmol/l	MgSO <sub>4</sub>	10 mmol/l
MgCl <sub>2</sub>	1 mmol/l	Saccharose	40 mmol/l
NaHCO <sub>3</sub>	25 mmol/l	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	3 mmol/l
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5 mmol/l	PEG 4000(#)	10 %
Glucose	8 mmol/l		
Harnstoff	5 mmol/l		
Kreatinin	0,5 mmol/l		

## Anhang: Rohdaten

Tab. 6: Rohdaten, Meßwerte als Mittelwerte aus jeweils drei Sammelpunkten in den Phasen „Kontrolle“ und „Effekt“; NA=Noradrenalin, NN=Nitroprussidnatrium, REF=Referenzgruppe; Gewicht = Nativgewicht der Niere [g]; MAD = mittlerer Perfusionsdruck [mmHg]; Perf.fluß = Perfusionsblutfluß [ml/min]; Hkt = Hämatokrit [l/l]; [Na](P) = Natriumionenkonzentration im Plasma [mmol/l]; [Na](U) = Natriumionenkonzentration im Urin [mmol/l]; Vol(U) = Urinsammelvolumen in 15 Minuten [ml]; [Krea](P) = Kreatininkonzentration im Plasma [mg/dl]; [Krea](U) = Kreatininkonzentration im Urin [mg/dl]; AVDO\_2 = arteriovenöse Sauerstoffdifferenz [mmol]

Phase	Gruppe	Niere	Gewicht	MAD	Perf.fluß	Hkt	[Na](P)	[Na](U)	Vol(U)	[Krea](P)	[Krea](U)	AVDO_2
Kontrolle	NA	151	145	77,67	220,00	0,28	145,67	48,67	90,67	2,93	9,30	30,96
Kontrolle	NA	169	213	69,67	300,00	0,22	137,00	46,33	85,67	3,60	19,27	13,98
Kontrolle	NA	184	256	85,00	373,33	0,21	140,67	91,00	350,00	4,33	6,77	31,62
Kontrolle	NA	187	185	87,33	200,00	0,20	130,67	28,67	79,33	3,20	10,73	27,27
Kontrolle	NA	230	236	76,00	275,48	0,21	137,00	49,67	24,33	3,30	41,33	46,01
Kontrolle	NA	231	231	84,67	220,00	0,32	138,00	32,67	21,67	3,30	74,00	32,74
Kontrolle	NA	232	190	74,67	431,39	0,32	150,33	48,00	27,33	3,53	16,70	15,72
Effekt	NA	151	145	106,00	220,00	0,33	150,00	58,00	72,67	2,60	9,77	14,38
Effekt	NA	169	213	83,67	300,00	0,25	143,67	59,67	200,67	3,17	8,73	16,54
Effekt	NA	184	256	101,33	360,00	0,18	148,33	98,33	310,00	4,00	5,93	16,02
Effekt	NA	187	185	80,67	156,67	0,21	137,00	41,33	57,00	2,80	8,63	33,67
Effekt	NA	230	236	81,00	221,25	0,24	139,00	44,33	25,00	2,77	19,33	54,44
Effekt	NA	231	231	82,00	150,00	0,28	139,33	27,33	41,33	2,83	24,70	49,57
Effekt	NA	232	190	81,33	309,37	0,35	159,33	77,00	46,67	3,33	8,67	24,78
Kontrolle	NN	136	95	96,00	180,00	0,34	147,00	100,67	28,67	3,23	13,13	12,96
Kontrolle	NN	156	140	65,00	280,00	0,21	133,33	36,33	67,67	2,17	14,90	22,39
Kontrolle	NN	186	233	79,33	200,00	0,23	139,00	15,33	40,00	3,37	16,43	12,61
Kontrolle	NN	233	220	79,33	220,00	0,29	142,33	40,00	104,00	3,07	13,10	27,72
Kontrolle	NN	239	303	91,00	340,00	0,19	141,67	33,67	34,33	3,60	38,33	23,01
Kontrolle	NN	240	320	90,67	320,00	0,24	137,00	52,33	31,67	3,20	48,83	8,36
Kontrolle	NN	242	200	98,00	346,67	0,20	134,33	83,33	1,60	3,93	15,60	2,17
Kontrolle	NN	245	333	91,33	280,00	0,20	138,33	44,00	26,67	3,00	75,00	16,63
Effekt	NN	136	95	82,33	180,00	0,33	146,33	108,00	17,33	2,97	10,67	8,38
Effekt	NN	156	140	63,33	340,00	0,20	139,00	39,67	33,33	2,30	9,97	11,43
Effekt	NN	186	233	84,00	273,33	0,22	140,67	21,33	28,67	3,03	12,60	1,20
Effekt	NN	233	220	79,33	306,67	0,29	151,33	38,67	62,67	2,20	11,27	8,51
Effekt	NN	239	303	95,67	360,00	0,23	145,67	51,00	37,00	2,47	22,47	32,79
Effekt	NN	240	320	94,67	353,33	0,21	139,00	54,33	42,00	2,83	20,27	7,16
Effekt	NN	242	200	86,67	346,67	0,20	132,33	75,67	0,46	3,93	14,13	7,36
Effekt	NN	245	333	89,33	290,00	0,19	138,67	48,33	22,67	2,47	46,00	15,13
Kontrolle	REF	165	144	63,00	220,00	0,29	134,00	112,00	37,00	3,35	42,20	61,11
Kontrolle	REF	191	208	82,50	260,00	0,18	134,50	59,50	85,50	2,95	17,90	23,46
Kontrolle	REF	203	174	106,50	320,00	0,28	141,50	30,50	11,50	2,65	88,00	27,99
Kontrolle	REF	219	244	92,00	280,00	0,28	135,00	117,50	79,00	4,90	57,75	14,86
Kontrolle	REF	251	193	83,50	240,00	0,18	139,67	57,00	38,50	3,50	36,80	16,64
Kontrolle	REF	252	238	86,00	305,00	0,27	143,00	61,50	9,50	2,90	135,75	23,36
Effekt	REF	165	144	50,50	220,00	0,21	133,50	71,50	16,00	2,80	92,50	23,42
Effekt	REF	191	208	79,00	260,00	0,18	138,00	53,50	66,00	2,40	14,85	32,48
Effekt	REF	203	174	97,00	300,00	0,25	144,50	81,50	114,00	2,25	13,35	10,59
Effekt	REF	219	244	90,00	280,00	0,22	134,00	131,00	60,50	3,25	38,40	16,37
Effekt	REF	251	193	88,00	240,00	0,19	145,00	74,00	61,00	2,75	11,80	18,95
Effekt	REF	252	238	85,50	310,00	0,23	142,00	34,50	16,00	2,45	91,00	16,59

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Peter E. Lange und Herrn Dr. Sven Dittrich für die freundliche Überlassung des Themas, die Durchsicht des Manuskriptes und für die freundliche und geduldige Betreuung.

Herrn Dr. Sven Dittrich, Herrn Dr. Alexander Schuth und Frau Dr. Johanna Loeper sowie Herrn Olaf Hegemann danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente, Herrn Dr. Frank Lippek für die Hilfe bei der Anfertigung der histologischen Präparate.

Gleichfalls danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Tierexperimentellen Einrichtung des Virchow-Klinikums, Charité, für die Bereitstellung von Versuchsraum und Geräten.

Mein ausgesprochener Dank gilt meinen Eltern, Frau Helga Ellen Aurich und Herrn Dr. Hans-Peter Aurich, die mir mein Studium in dieser Form ermöglichten und mir während der Niederschrift des Manuskriptes stets zur Seite standen.



## **Erklärung an Eides Statt**

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, daß diese Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfaßt wurde. Sie enthält auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten.

Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur habe ich vollständig angegeben.

Berlin, den 31.07.2003

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Aurich', written in a cursive style.

Henning Aurich